

THIS PAGE BLANK (USPTO)

M-H

ENT COOPERATION TREA . Y

PC/JP99/00000

PCT

NOTIFICATION OF ELECTION
(PCT Rule 61.2)

From the INTERNATIONAL BUREAU

To:

Assistant Commissioner for Patents
United States Patent and Trademark
Office
Box PCT
Washington, D.C.20231
ÉTATS-UNIS D'AMÉRIQUE

in its capacity as elected Office

| | |
|---|---|
| Date of mailing (day/month/year) 08 March 2000 (08.03.00) | |
| International application No. PCT/JP99/03563 | Applicant's or agent's file reference PH-671-PCT |
| International filing date (day/month/year) 01 July 1999 (01.07.99) | Priority date (day/month/year) 08 July 1998 (08.07.98) |
| Applicant NOMURA, Hideaki et al | |

1. The designated Office is hereby notified of its election made:

in the demand filed with the International Preliminary Examining Authority on:

08 February 2000 (08.02.00)

in a notice effecting later election filed with the International Bureau on:

2. The election was

was not

made before the expiration of 19 months from the priority date or, where Rule 32 applies, within the time limit under Rule 32.2(b).

| | |
|---|--|
| The International Bureau of WIPO 34, chemin des Colombettes 1211 Geneva 20, Switzerland Facsimile No.: (41-22) 740.14.35 | Authorized officer Maria Kirchner Telephone No.: (41-22) 338.83.38 |
|---|--|

THIS PAGE BLANK (USPTO)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP99/03563

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

| Category* | Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages | Relevant to claim No. |
|-----------|---|-----------------------|
| X | JP, 63-146827, A (Chugai Pharmaceutical Co., Ltd.), 18 June, 1988 (18. 06. 88), Refer to the full text & DE, 3723781, A1 & GB, 2193631, A & FR, 2601591, A1 | 1, 2, 6-12 |
| X | JP, 9-291025, A (Teijin Ltd.), 11 November, 1997 (11. 11. 97), Refer to Claims & WO, 97/31626, A1 | 1, 2, 6-12 |
| X | JP, 10-59841, A (Teijin Ltd.), 3 March, 1998 (03. 03. 98), Refer to Claims (Family: none) | 1, 2, 6-12 |
| X | JP, 5-97694, A (Denki Kagaku Kogyo K.K.), 20 April, 1993 (20. 04. 93), Refer to Claims ; Par. Nos. [0020], [0033] to [0036] ; Example 4 (Family: none) | 1, 2, 6-12 |
| X | JP, 7-118170, A (Dott Limited Company), 9 May, 1995 (09. 05. 95), Refer to Claims ; Tables 4, 5 (Family: none) | 1, 2, 6-12 |
| Y | EP, 266113, A1 (AMERICAN HOME PRODUCTS CORP.), 4 May, 1998 (04. 05. 98), Refer to the full text & US, 4760093, A & JP, 63-112513, A | 3 |
| Y | JP, 4-26617, A (Taisho Pharmaceutical Co., Ltd.), 29 January, 1992 (29. 01. 92), Refer to Claims (Family: none) | 4 |

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP99/03563

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

Int.Cl⁶ A61K38/00, 38/18, 38/27, 38/28, 39/145, 39/395, 9/14, 47/30, 47/42

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

Int.Cl⁶ A61K38/00, 38/18, 38/27, 38/28, 39/145, 39/395, 9/14, 47/30, 47/42

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

REGISTRY (STN), CAPLUS (STN)

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

| Category* | Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages | Relevant to claim No. |
|-----------|--|-----------------------|
| PX | WO, 99/17742, A2 (ELAN CORPORATION, PLC), 15 April, 1999 (15. 04. 99), Refer to page 3, line 26 to page 4, line 22 ; Examples & AU, 9891824, A1 | 10-12 |
| X Y | WO, 90/09780, A1 (DANBIO-SYST UK LIMITED), 7 September, 1990 (07. 09. 90), Refer to the full text & US, 5554388, A & JP, 4-503508, A | 1, 2, 6-12 3-5 |
| X | JP, 10-95738, A (K.K. TTS Gijutsu Kenkyusho), 14 April, 1998 (14. 04. 98), Particularly refer to Tables 4 to 12 (Family: none) | 1, 2, 5-12 |
| X | WO, 89/03207, A (COSMAS-DAMIAN LIMITED), 20 April, 1989 (20. 04. 89), Refer to the full text & US, 5204108, A & JP, 3-503160, A | 1, 2, 6-12 |

Further documents are listed in the continuation of Box C.

See patent family annex.

* Special categories of cited documents:

"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

"E" earlier document but published on or after the international filing date

"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T"

later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art

"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

16 September, 1999 (16. 09. 99)

Date of mailing of the international search report

28 September, 1999 (28. 09. 99)

Name and mailing address of the ISA/
Japanese Patent Office

Authorized officer

Facsimile No.

Telephone No.

明 細 書

高分子医薬品含有粉末状経粘膜投与製剤

技術分野

本発明は、高分子医薬品を有効成分として含有する経粘膜投与製剤に関し、より詳細には、高分子医薬品およびカチオン性ポリマーを含有してなる粉末状経粘膜投与製剤に関する。本発明は、特に、粉末状経鼻粘膜投与製剤に関する。

背景技術

現在、高分子医薬品は治療に際し、静脈内あるいは皮下に対して注射による投与が行われている。しかし、注射による高分子医薬品の投与は患者自身が行うことが困難な上に苦痛を伴うことから、注射以外のより簡便な投与方法として経粘膜投与が望まれている。経粘膜投与の具体例としては、鼻粘膜、眼粘膜、口腔粘膜、肺粘膜、膣粘膜、また胃粘膜、小腸粘膜、大腸粘膜、直腸粘膜などの消化管粘膜からの投与を挙げることができる。中でも、鼻粘膜投与が速やかな薬物吸収と確実な効果がもたらされる比較的簡便な投与方法として注目されている。しかしながら、その吸収性は分子量に依存し、分子量が1,000以下のものは比較的効果的に吸収されるが、それ以上になると何らかの工夫無しに効果的に吸収させることは困難である (C. Mc Martin等: J. Pharm. Sci., 76 (7): 535-540 (1987))。したがって高分子医薬品を鼻粘膜を通して投与することによって治療効果を得ることは難しかった。

高分子医薬品の難吸収性を改善する手段として、界面活性剤や胆汁酸塩を吸収促進剤として併用する方法 (S. Hirai等: Int. J. Pharm., 9: 173-184 (1981)、Y. Maitani

等: Drug Design and Delivery, 1: 65-70 (1986)）、シクロデキストリンを吸収促進剤として併用する方法 (N. G. M. Schipper等: J. Control Release, 21(1): 173-185 (1992)、T. Irie等: J. Inter. Pharm., 84: 129-139 (1992)) があるが、これらの吸収促進剤は鼻粘膜への障害性が懸念されることが問題となっている。一方、アルブミン、デキストラン、ヒアルロン酸ナトリウムなどの高分子類を吸収促進剤として併用する方法 (T. Igawa等: Chem. Pharm. Bull. 36(8): 3055-3059 (1988)、特開平6-65090号、特開平8-198772号) があるが、吸収促進効果がいまだ充分でないことや工業的な製造が困難なことなどにより実用化にいたっていない。

また、特開平10-95738号には、難吸収性のモデル薬物（物質）として、フルオロセインイソチオシアネートデキストラン（以下、「FITC-dextran」と記す、分子量；4,400）を用い、これをアルギニン、そのポリ体またはそのポリ体の塩を溶解させた生理食塩水に加えた製剤を調製し、この製剤をウイスターラットの鼻腔粘膜内に投与したところ、FITC-dextranのより高い血中濃度が持続したことが記載されている。

特表平4-503508号には、インシュリン溶液にDEAE-デキストランまたはキトサンを添加した製剤をラットの鼻孔に投与したことが記載されている。

以上のような種々の方法が開発されているが、今なお、高分子医薬品の難吸収性を改善する手段として、より効果的および実用的な方法が求められている。

従って、本発明は、高分子医薬品を粘膜より安全に効率よく吸収させることのできる経粘膜投与製剤、特に経鼻投与製剤を提供することを目的とする。また、本発明は、高分子医薬品を安全に効率よく生体に吸収させることのできる粉末状医薬組成物を提供することも目的とする。

発明の開示

本発明者等は高分子医薬品を安全に効率よく粘膜から吸収させる製剤の開発を目的に検討した結果、カチオン性ポリマーが粘膜組織のタイトジャニクションを拡張させることにより高分子医薬品の粘膜からの吸収を促進させること、さらには増粘性ポリマーをカチオン性ポリマーと併用させると増粘性ポリマーの働きにより粘膜内での滞留性が向上しさらなる吸収の増大が得られることを見いだし、本発明を完成させた。また、本発明者らは、カチオン性ポリマーの中でも特に、アミノアルキルメタアクリレートコポリマー、または、ポリビニルアセタールジエチルアミノアセテートが、同じくカチオン性ポリマーであるポリーレーアルギニンと比較してその吸収促進効果が優れていることを見出している。

すなわち、本発明は、高分子医薬品およびカチオン性ポリマーを含有してなる粉末状経粘膜投与製剤、特に経鼻投与製剤を提供する。本発明の粉末状経粘膜投与製剤は、さらに増粘性ポリマーを含有するとよい。カチオン性ポリマーとしては、アミノアルキルメタアクリレートコポリマー、ポリビニルアセタールジエチルアミノアセテート、ポリーレーアルギニンなどが挙げられるが、アミノアルキルメタアクリレートコポリマーおよびポリビニルアセタールジエチルアミノアセテートが好ましい。増粘性ポリマーとしては、ヒドロキシプロピルメチルセルロースが挙げられる。高分子医薬品は、生理活性を有するペプチドおよびタンパク質、抗体、ワクチン、ならびに抗原からなる群より選択することができるが、本発明の粉末状経粘膜投与製剤は、特に、顆粒球コロニー刺激因子、インシュリン、エリスロポエチン、成長ホルモンまたはインフルエンザ抗原の経粘膜投与、特に経鼻投与に効果的である。

また、本発明は、高分子医薬品およびカチオン性ポリマーを含有してなる粉末状医薬組成物を提供する。本発明の粉末状医薬組成物において、高分子医薬品は、生理活性を有するペプチドおよびタンパク質、抗体、

ワクチン、ならびに抗原からなる群より選択することができるが、本発明の粉末状医薬組成物は、特に、顆粒球コロニー刺激因子、インシュリン、エリスロポエチン、成長ホルモンまたはインフルエンザ抗原の投与に効果的である。

以下に、本発明を詳細に説明する。

本発明の一態様において、本発明の粉末状経粘膜投与製剤は、高分子医薬品に賦形剤（例えば、糖類）およびカチオン性ポリマー、あるいはさらに増粘性ポリマーを、さらに必要に応じて適当な添加剤を加え、凍結乾燥（フリーズドライ）あるいは噴霧乾燥（スプレードライ）することにより得られる。

本発明において用いられる高分子医薬品とは生理活性を有するペプチドおよびタンパク質、抗体、ワクチン、抗原などをさし、具体的には次のようなものが挙げられるが、本発明はこれらにより何ら限定されるものではない。カルシトニン、インシュリン、プロインシュリン、バソプレッシン、デスモプレシン、黄体形成ホルモン、黄体形成ホルモン放出ホルモン、ソマトスタチン、プロラクチン、グルカゴン、ガストリン、セクレチン、カリクレイン、ウロキナーゼ、ニューロテンシン、エンケファリン、キョートルフィン、エンドルフィン、エンドセリン、アンギオテンシン、トランスフェリン、心房性ナトリウム利尿ペプチド、上皮細胞増殖因子、成長ホルモン、副甲状腺ホルモン、インターフェロン、インターロイキン、腫瘍壞死因子、白血病細胞阻止因子、血液幹細胞増殖因子、エリスロポエチン、顆粒球コロニー刺激因子、顆粒球マクロファージ刺激因子、マクロファージコロニー刺激因子、トロンボポエチン、スーパーオキサイドディスムターゼ、ティシュープラスマノーゲンアクチベーター、アンチトロンビン、血液凝固因子、抗 Ig E 抗体、抗 Ig A 抗体、抗腫瘍抗体、腫瘍壞死因子抗体、抗インターロイキン抗体、HIV 中和抗体、抗血小板抗体、抗肝炎ウィルス抗体、肝炎ワクチン、インフルエンザワクチン（インフルエンザ抗原）、百日咳ワクチン、ジフ

テリアワクチン、破傷風ワクチン、杉花粉あるいはぶたくさ花粉などの、抗原として作用しうるペプチドあるいはタンパク質およびそれらのハプロテイン結合物、さらにはそれらとアジュバントとの混合物など。また、これらに挙げた高分子医薬品よりも分子量の小さな医薬品に対しても、本発明はその粘膜、特に鼻粘膜からの吸収性をより増大させることが容易に推測され、本発明の適用が有用と考えられる。

本発明に用いることができる高分子医薬品の一つであるG-CSFの例としては、配列番号1～3のアミノ酸配列で表されるヒトG-CSF活性を有するポリペプチド、又はこれに糖鎖が付された糖タンパク質を挙げることができる。更に同配列のアミノ酸配列の一部が改変（置換、欠失、挿入、および／または付加）されたG-CSF活性を有するG-CSF誘導体も本発明におけるG-CSFに含まれる。

これらのG-CSFは、天然物から抽出・分離・精製するか、或いは遺伝子組換えによって形質転換して得た形質転換体をして生産せしめ、単離精製したものを使用することができる。宿主細胞としては大腸菌、哺乳動物細胞（C127、CHO細胞など）を挙げることができる。これらの詳細な製造方法については、例えば、特表昭63-500636号や特開昭62-236497号、特開昭62-236488号、および特開昭63-267292号明細書に開示されている。

本発明の粉末状経粘膜投与製剤における高分子医薬品の含有率は、通常0.01～90W/W%、好ましくは0.1～50W/W%である。

本発明において用いられるカチオン性ポリマーとは、反復構造をなす基本単位の中にカチオンチャージを有する、あるいは溶解するとカチオンチャージを有するようになる構造を持つものをいう。本発明において用いられるカチオン性ポリマーは、粘膜からの高分子医薬品の吸収を促進する効果を持つものであればよい。具体的には、アミノアルキルメタアクリレートコポリマー、ポリビニルアセタールジエチルアミノアセート、ポリ-L-アルギニンなどを用いることができる。アミノアルキ

ルメタアクリレートコポリマーは、例えば、Rohm Pharma から商品名オイドラギット E およびオイドラギット RS として入手することができる。オイドラギット E は、メタアクリル酸メチルとメタアクリル酸ブチルおよびメタアクリル酸ジメチルアミノエチルの共重合体であり、平均分子量は 150,000 である。ポリビニルアセタールジエチルアミノアセテートは、例えば、三共（株式会社）から商品名 AEA として入手することができるが、これは、ポリビニルアルコールとアセトアルデヒドを脱水して得たアセタールおよび水酸基の一部にジエチルアミノ酢酸をエステル結合させて得られる平均分子量 65,000 の重合体である。ポリ-L-アルギニンは、L-アルギニンの重合体であり、平均分子量としては 1000～1,000,000 のものが挙げられるが、好ましくは 12,100～92,000 であるとよく、より好ましくは 92,000 である。ポリ-L-アルギニンは、シグマから入手することができる。本発明の粉末状経粘膜投与製剤におけるカチオン性ポリマーの含有率は、通常 0.1～90 W/W%、好ましくは 1～50 W/W% である。

本発明において用いられる増粘性ポリマーとは、溶解時あるいは膨潤時に粘性をもつポリマーをさす。本発明において用いられる増粘性ポリマーは、カチオン性ポリマーと併用された時に、カチオン性ポリマーが単独で用いられた時よりも、高分子医薬品の吸収が増大するものであればよい。具体的には、ヒドロキシプロピルメチルセルロース、ヒドロキシプロピルセルロース、カルボキシビニルポリマー、カンテン末、アラビアゴム末などを用いることができる。本発明の粉末状経粘膜投与製剤における増粘性ポリマーの含有率は、通常 0.1～90 W/W%、好ましくは 1～50 W/W% である。

本発明において用いられる賦形剤は糖類に代表されるが、このような糖類としては、キシリトール、フルクトース、ソルビトール、ラクトース、イノシトール、シュクロース、マンニトール等などがあげられる。その他にも、賦形剤としては、デンプン類、無機質類、有機酸類、アミ

ノ酸類などが挙げられる。デンプン類としては、トウモロコシデンプン、小麦デンプン、バレイショデンプンなどが含まれる。無機質類としては、リン酸カルシウム、リン酸水素カルシウム、リン酸水素2ナトリウム、リン酸2水素ナトリウム、炭酸マグネシウム、塩化ナトリウム、硫酸カルシウムなどが含まれる。有機酸類としては、コハク酸、酒石酸、クエン酸、フマル酸、リンゴ酸、グルコン酸、グルクロロン酸およびその塩などが含まれる。アミノ酸類としては、L-アルギニン、D, L-メチオニン、L-フェニルアラニン、L-グルタミン酸などが含まれる。本発明の粉末状経粘膜投与製剤における賦形剤の含有率は、通常1～90W/W%、好ましくは5～80W/W%である。

本発明では必要に応じて滑沢剤などの添加剤を用いる。滑沢剤としては、ステアリン酸マグネシウム、ステアリン酸、タルクなどが含まれる。本発明の粉末状経粘膜投与製剤における添加剤の含有率は、通常0.01～90W/W%、好ましくは0.05～50W/W%である。

以下に、本発明の粉末状経粘膜投与製剤の製造方法の一例を簡単に説明する。

G-CSFの緩衝溶液とあらかじめカチオン性ポリマー、およびシクロース、マンニトール等の賦形剤あるいはまた増粘性ポリマーを溶解させておいた緩衝溶液を混合する。これを噴霧乾燥し、粉末を得る。

得られた粉末を必要量秤量し、カプセルに充填して粉末状経粘膜投与製剤を得る。

上記のようにして製造された経粘膜投与製剤の粉末は、通常0.1～500 μm の粒径（直径）を有し、好ましくは、5～100 μm の粒径を有する。

経粘膜投与製剤の粉末はカプセル化されると取扱が容易になる。カプセル基剤の材料としては、ゼラチン、ヒドロキシプロピルメチルセルロース、メチルセルロース、デンプンなどを挙げることができ、これらの材料にグリセリン、ソルビトール、カラギーナン、ポリエチレン glycol、アラビアゴムなどを添加して、塑性を増加させてもよい。

その他にも、塩化カリウム、シュクロース、着色剤、酸化チタンを添加してもよい。

本発明の粉末状経粘膜投与製剤は、必要時にあるいは適当な投与頻度で、患者の粘膜に投与することができる。粘膜の具体例としては、鼻粘膜の他に眼粘膜、口腔粘膜、肺粘膜、膣粘膜、また、胃粘膜、小腸粘膜、大腸粘膜、直腸粘膜などの消化管粘膜を挙げることができる。例えば、本発明の製剤を経鼻投与する場合には、粉末状製剤を内包するカプセルを小型噴霧器（パブライザー）にセットし、カプセルに穴をあけた後、ノズルを鼻孔に挿入し、鼻で息を吸いながら、ゴム球を押さえることにより、鼻腔内に粉末状製剤を噴霧すればよい。顆粒球コロニー刺激因子を有効成分として含有する製剤は、一日1～4回、有効成分の量にして1～500 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{日}$ 、好ましくは5～100 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{日}$ の量で、患者に投与すればよい。インシュリンを有効成分として含有する製剤は、一日1～4回、有効成分の量にして0.1～100 $\text{U}/\text{kg}/\text{日}$ 、好ましくは0.5～20 $\text{U}/\text{kg}/\text{日}$ の量で、患者に投与すればよい。エリスロポエチンを有効成分として含有する製剤は、一日1～4回、有効成分の量にして50～50,000 $\text{IU}/\text{kg}/\text{日}$ 、好ましくは200～8,000 $\text{IU}/\text{kg}/\text{日}$ の量で、患者に投与すればよい。成長ホルモンを有効成分として含有する製剤は、一日1～4回、有効成分の量にして0.1～50 $\text{IU}/\text{kg}/\text{日}$ 、好ましくは0.4～15 $\text{IU}/\text{kg}/\text{日}$ の量で、患者に投与すればよい。インフルエンザ抗原を有効成分として含有する製剤は、一日1～4回、2週～6週の間隔をあけて、有効成分の量にして0.5～200 $\text{CCA}/\text{kg}/\text{日}$ 、好ましくは2～40 $\text{CCA}/\text{kg}/\text{日}$ の量で、対象者に投与すればよい。

本明細書は、本願の優先権の基礎である日本国特許出願特願平10-192722号および特願平11-81549号の明細書および／または図面に記載される内容を包含する。

発明を実施するための最良の形態

以下、本発明を実施例により具体的に説明するが、本発明の範囲はこれらの実施例に限定されることはない。

以下の実施例および比較例において使用したカチオン性ポリマー、シユクロース、D-マンニトール、ヒドロキシプロピルメチルセルロース、ヒアルロン酸ナトリウム、それらの緩衝溶液の成分（緩衝成分）は以下のとおりである。

カチオン性ポリマー

ポリ-L-アルギニン（シグマ社）

アミノアルキルメタアクリレートコポリマーE（Rohm Pharma社、商品名：オイドラギット（Eudragit）E100）

ポリビニルアセタールジエチルアミノアセテート（三共社、商品名：AEA）

ジエチルアミノエチル（DEAE）-デキストラン（Fluka社）

キトサン（キトサン8B、製造元：カトキチ社、販売元：フナコシ社）

シユクロース（小堺製薬、日本薬局方 白糖）

D-マンニトール（花王 ニッキヨク マンニトール カオー）

ヒドロキシプロピルメチルセルロース（信越化学、商品名：メトローズ60SH4000）

ヒアルロン酸ナトリウム（東京化成工業）

緩衝成分

クエン酸（東洋製薬化成）、リン酸（国産化学）

以下の実施例で用いた高分子医薬品は以下のとおりである。

顆粒球コロニー刺激因子（G-CSF）は、遺伝子組換え大腸菌により產生された、配列番号1に記載のアミノ酸配列を有するポリペプチドである（特表昭63-500636 参照）。また、こうして得られたG-CSFを濃縮、緩衝液置換をしてG-CSF緩衝液を得た。

インシュリンは市販のもの（ベーリンガーマンハイム社 ヒト組替え体

M_w = 約 5700) である。

エリスロポエチンは市販のもの (キリンビール社 ヒト組替え体 M_w = 約 30,000) である。

成長ホルモンは市販のもの (Chemicon社 ヒト組替え体 M_w = 約 22,000) である。

インフルエンザ A 抗原は市販のもの (Chemicon社) である。

〈実施例 1〉

顆粒球コロニー刺激因子 (G-CSF) の緩衝溶液にシュクロースおよびポリ-L-アルギニンの緩衝溶液を加え、噴霧乾燥し、以下の処方の粉末状経鼻製剤を得た。

| | |
|------------|-----------|
| G-CSF | 20 W/W % |
| ポリ-L-アルギニン | 20 W/W % |
| シュクロース | 26 W/W % |
| 緩衝成分 | 適量 |
| 全量 | 100 W/W % |

〈実施例 2〉

顆粒球コロニー刺激因子 (G-CSF) の緩衝溶液にシュクロースおよびポリビニルアセタールジエチルアミノアセテート (AEA) の緩衝溶液を加え、噴霧乾燥し、以下の処方の粉末状経鼻製剤を得た。

| | |
|--------|-----------|
| G-CSF | 20 W/W % |
| AEA | 20 W/W % |
| シュクロース | 26 W/W % |
| 緩衝成分 | 適量 |
| 全量 | 100 W/W % |

〈実施例 3〉

顆粒球コロニー刺激因子 (G-CSF) の緩衝溶液にシュクロースお

およびアミノアルキルメタアクリレートコポリマーE（オイドラギットE100）の緩衝溶液を加え、噴霧乾燥し、以下の処方の粉末状経鼻製剤を得た。

| | |
|-------------|-------------|
| G - C S F | 2 0 W／W % |
| オイドラギットE100 | 2 0 W／W % |
| シュクロース | 2 6 W／W % |
| 緩衝成分 | 適量 |
| 全量 | 1 0 0 W／W % |

〈実施例4〉

顆粒球コロニー刺激因子（G - C S F）の緩衝溶液にシュクロースおよびアミノアルキルメタアクリレートコポリマーE（オイドラギットE100）の緩衝溶液を加え、噴霧乾燥し、以下の処方の粉末状経鼻製剤を得た。

| | |
|-------------|-------------|
| G - C S F | 2 0 W／W % |
| オイドラギットE100 | 1 0 W／W % |
| シュクロース | 6 3 W／W % |
| 緩衝成分 | 適量 |
| 全量 | 1 0 0 W／W % |

〈実施例5〉

顆粒球コロニー刺激因子（G - C S F）の緩衝溶液にシュクロースおよびアミノアルキルメタアクリレートコポリマーE（オイドラギットE100）の緩衝溶液を加え、噴霧乾燥し、以下の処方の粉末状経鼻製剤を得た。

| | |
|-------------|-----------|
| G - C S F | 2 0 W／W % |
| オイドラギットE100 | 2 0 W／W % |
| シュクロース | 5 3 W／W % |

| | |
|------|----------|
| 緩衝成分 | 適量 |
| 全量 | 100 W/W% |

〈実施例 6〉

顆粒球コロニー刺激因子（G-CSF）の緩衝溶液にシュクロースおよびアミノアルキルメタアクリレートコポリマーE（オイドラギットE100）の緩衝溶液を加え、噴霧乾燥し、以下の処方の粉末状経鼻製剤を得た。

| | |
|-------------|----------|
| G - C S F | 20 W/W% |
| オイドラギットE100 | 30 W/W% |
| シュクロース | 43 W/W% |
| 緩衝成分 | 適量 |
| 全量 | 100 W/W% |

〈実施例 7〉

顆粒球コロニー刺激因子（G-CSF）の緩衝溶液にシュクロースおよびアミノアルキルメタアクリレートコポリマーE（オイドラギットE100）の緩衝溶液を加え、噴霧乾燥し、以下の処方の粉末状経鼻製剤を得た。

| | |
|-------------|----------|
| G - C S F | 20 W/W% |
| オイドラギットE100 | 57 W/W% |
| 緩衝成分 | 適量 |
| 全量 | 100 W/W% |

〈実施例 8〉

顆粒球コロニー刺激因子（G-CSF）の緩衝溶液にシュクロースおよびアミノアルキルメタアクリレートコポリマーE（オイドラギットE100）の緩衝溶液を加え、噴霧乾燥し、以下の処方の粉末状経鼻製剤を得た。

得た。

| | |
|-------------|---------------|
| G - C S F | 2 0 W / W % |
| オイドラギットE100 | 2 0 W / W % |
| シュクロース | 4 7 W / W % |
| 緩衝成分 | 適量 |
| 全量 | 1 0 0 W / W % |

〈実施例 9〉

顆粒球コロニー刺激因子（G - C S F）の緩衝溶液にシュクロースおよびアミノアルキルメタアクリレートコポリマーE（オイドラギットE100）およびヒドロキシプロピルメチルセルロース（H P M C）の緩衝溶液を加え、噴霧乾燥し、以下の処方の粉末状経鼻製剤を得た。

| | |
|-------------|---------------|
| G - C S F | 2 0 W / W % |
| オイドラギットE100 | 2 0 W / W % |
| H P M C | 1 0 W / W % |
| シュクロース | 3 7 W / W % |
| 緩衝成分 | 適量 |
| 全量 | 1 0 0 W / W % |

〈実施例 10〉

顆粒球コロニー刺激因子（G - C S F）の緩衝溶液にシュクロースおよびアミノアルキルメタアクリレートコポリマーE（オイドラギットE100）およびヒドロキシプロピルメチルセルロース（H P M C）の緩衝溶液を加え、噴霧乾燥し、以下の処方の粉末状経鼻製剤を得た。

| | |
|-------------|-------------|
| G - C S F | 2 0 W / W % |
| オイドラギットE100 | 2 0 W / W % |
| H P M C | 2 0 W / W % |
| シュクロース | 2 7 W / W % |

| | |
|------|---------|
| 緩衝成分 | 適量 |
| 全量 | 100W/W% |

〈比較例1〉

顆粒球コロニー刺激因子（G-CSF）の緩衝溶液にシュクロースの緩衝溶液を加え、噴霧乾燥し、以下の処方の粉末状経鼻製剤を得た。

| | |
|--------|---------|
| G-CSF | 20W/W% |
| シュクロース | 46W/W% |
| 緩衝成分 | 適量 |
| 全量 | 100W/W% |

〈比較例2〉

顆粒球コロニー刺激因子（G-CSF）の緩衝溶液にシュクロースおよびヒアルロン酸ナトリウムの緩衝溶液を加え、噴霧乾燥し、以下の処方の粉末状経鼻製剤を得た。

| | |
|-------------|---------|
| G-CSF | 20W/W% |
| ヒアルロン酸ナトリウム | 20W/W% |
| シュクロース | 26W/W% |
| 緩衝成分 | 適量 |
| 全量 | 100W/W% |

〈実験例1〉

雄性ビーグル犬を用い、実施例1および比較例1で調製した製剤をG-CSFとして $100\mu\text{g}/\text{kg}$ となるように、ゼラチンカプセルに充填した。先端に約2.5cmの長さのシリコンチューブを接着したパブライザー(R)(石川製作所製)にゼラチンカプセルを装着し投与の準備を行なった。外鼻孔よりパブライザーのシリコンチューブ部を鼻腔内に挿入し、ゴム球部分を押して投与した。投与後、一定時間毎に前腕静脈

より採血した。血中G-CSF濃度はELISA法 (T. Ichikawa 等: Experimental Hematology 23: 192-195(1955)) を用いて測定した。表1に血中G-CSF濃度-時間曲線下面積 (AUC₀) の値を示した。この結果、高分子類を含有しない比較例1に比べカチオン性ポリマーとしてポリ-L-アルギニンを含有する実施例1はAUC₀で高い値を示し、ポリ-L-アルギニンの添加でG-CSFの鼻粘膜からの吸収が促進されることがわかった。

表1

| 投与製剤 | 比較例1 | 実施例1 |
|--|------|------|
| AUC ₀ 0→32時間 (·hr·ml ⁻¹) | 5.3 | 10.3 |

〈実験例2〉

雄性ビーグル犬を用い、比較例1および比較例2で調製した製剤をG-CSFとして100μg/kgとなるようにゼラチンカプセルに充填した。先端に約2.5cmの長さのシリコンチューブを接着したパブライザー(R) (石川製作所製) にゼラチンカプセルを装着し投与の準備を行なった。外鼻孔よりパブライザーのシリコンチューブ部を鼻腔内に挿入し、ゴム球部分を押して投与した。投与後、一定時間毎に前腕静脈より採血した。血中G-CSF濃度はELISA法を用いて測定した。表2に血中G-CSF濃度-時間曲線下面積 (AUC₀) の値を示した。この結果、高分子類を含有しない比較例1に比べてカチオン性ポリマーではないポリマーであるヒアルロン酸ナトリウムを含有する比較例2はAUC₀でほぼ同じ値を示し、ほとんど吸収促進効果を示さなかった。

表 2

| 投与製剤 | 比較例 1 | 比較例 2 |
|--|-------|-------|
| A U C ₆ 0→32時間 (ng·hr·ml ⁻¹) | 4.8 | 4.6 |

〈実験例 3〉

雄性ビーグル犬を用い、実施例 1、2 および 3 で調製した製剤を G-C S F として 100 μg / kg となるようにゼラチンカプセルに充填した。先端に約 5.0 cm の長さのシリコンチューブを接着したパブライザー(R) (石川製作所製) にゼラチンカプセルを装着し投与の準備を行なった。外鼻孔よりパブライザーのシリコンチューブ部を鼻腔内に挿入し、ゴム球部分を押して投与した。投与後、一定時間毎に前腕静脈より採血した。採血した血液中の白血球数はマイクロセルカウンターを用いてカウントした。血中 G-C S F 濃度は E L I S A 法を用いて測定した。表 3 に増加白血球数 - 時間曲線下面積 (A U C_w) および血中 G-C S F 濃度 - 時間曲線下面積 (A U C₆) の値を示した。この結果、A E A やオイドラギット E100 にはポリ - L - アルギニンより優れた吸収促進効果があることが判明した。

表 3

| 投与製剤 | 実施例 1 | 実施例 2 | 実施例 3 |
|--|-------|-------|-------|
| A U C _w 0→72時間 (カウント·hr·ml ⁻¹) | 3083 | 5095 | 5707 |
| A U C ₆ 0→31時間 (ng·hr·ml ⁻¹) | 13.4 | 73.0 | 44.4 |

〈実験例 4〉

雄性ビーグル犬を用い、実施例4、5、6および7で調製した製剤をG-CSFとして $100\mu\text{g}/\text{kg}$ となるようにゼラチンカプセルに充填した。先端に約5.0cmの長さのシリコンチューブを接着したパプライザー(R)(石川製作所製)にゼラチンカプセルを装着し投与の準備を行なった。外鼻孔よりパプライザーのシリコンチューブ部を鼻腔内に挿入し、ゴム球部分を押して投与した。投与後、一定時間毎に前腕静脈より採血した。採血した血液中の白血球数はマイクロセルカウンターを用いてカウントした。血中G-CSF濃度はELISA法を用いて測定した。表4に增加白血球数-時間曲線下面積(AUC_w)および血中G-CSF濃度-時間曲線下面積(AUC₀)の値を示した。この結果、オイドラギットE100の含有量を様々に変化させてもその効果は保持された。

表4

| 投与製剤 | 実施例4 | 実施例5 | 実施例6 | 実施例7 |
|--|---------|---------|---------|---------|
| AUC _w 0→72時間 (カウント・hr・ml ⁻¹) | 3 4 7 5 | 4 0 5 3 | 4 1 3 8 | 4 5 6 2 |
| AUC ₀ 0→31時間 (ng・hr・ml ⁻¹) | 2 5 . 6 | 2 7 . 1 | 1 6 . 8 | 1 1 . 1 |

<実験例5>

雄性ビーグル犬を用い、実施例8、9および10で調製した製剤をG-CSFとして $100\mu\text{g}/\text{kg}$ となるようにゼラチンカプセルに充填した。先端に約5.0cmの長さのシリコンチューブを接着したパプライザー(R)(石川製作所製)にゼラチンカプセルを装着し投与の準備を行なった。外鼻孔よりパプライザーのシリコンチューブ部を鼻腔内に挿入し、ゴム球部分を押して投与した。投与後、一定時間毎に前腕静脈より採血した。採血した血液中の白血球数はマイクロセルカウンターを用

いてカウントした。血中G-CSF濃度はELISA法を用いて測定した。表5に増加白血球数-時間曲線下面積(AUC_w)および血中G-CSF濃度-時間曲線下面積(AUC₀)の値を示した。この結果、オイドラギットE100とともにHPMCを添加すると、オイドラギット単独よりも効果が増強されることが明らかとなった。

表5

| 投与製剤 | 実施例8 | 実施例9 | 実施例10 |
|--|---------|---------|---------|
| AUC _w 0→72時間 (カウント・hr・ml ⁻¹) | 3 9 8 8 | 5 4 8 2 | 5 6 1 8 |
| AUC ₀ 0→31時間 (ng・hr・ml ⁻¹) | 1 9 . 9 | 5 4 . 5 | 7 6 . 7 |

〈実施例11〉

顆粒球コロニー刺激因子(G-CSF)の緩衝溶液にD-マンニトルおよびアミノアルキルメタアクリレートコポリマーE(オイドラギットE100)の緩衝溶液を加え、噴霧乾燥し、以下の処方の粉末状経鼻投与製剤を得た。

| | |
|-------------|--------------|
| G-CSF | 1 0 . 0 W/W% |
| オイドラギットE100 | 7 . 5 W/W% |
| D-マンニトル | 7 5 . 0 W/W% |
| 緩衝成分 | 適量 |
| 全量 | 1 0 0 W/W% |

〈比較例3〉

顆粒球コロニー刺激因子(G-CSF)の緩衝溶液にD-マンニトルの緩衝溶液を加え、噴霧乾燥し、以下の処方の粉末状経鼻投与製剤を得た。

| | |
|------------|-----------------|
| G - C S F | 1 0 . 0 W / W % |
| D - マンニトール | 8 1 . 8 W / W % |
| 緩衝成分 | 適量 |
| 全量 | 1 0 0 W / W % |

〈実験例 6 〉

雄性ビーグル犬を用い実施例 1 1 および比較例 3 で調製した製剤を G - C S F として $50 \mu\text{g} / \text{kg}$ 投与されるようにゼラチンカプセルに充填した。先端に約 5.0 cm の長さのシリコンチューブを接着したパブライザー (R) (石川製作所製) にゼラチンカプセルを装着し投与の準備を行なった。外鼻孔よりパブライザーのシリコンチューブ部を鼻腔内に挿入し、ゴム球部分を押して投与した。投与後、一定時間毎に前腕静脈より採血した。血中 G - C S F 濃度は E L I S A 法を用いて測定した。表 6 に血中 G - C S F 濃度一時間曲線下面積 (A U C_G) の値を示した。その結果、オイドラギット E 100 は G - C S F の経鼻吸收を顕著に促進することが判明した。

表 6

| 投与製剤 | 実施例 1 1 | 比較例 3 |
|---|---------|---------|
| A U C _G 0 → 31 時間 (ng · hr · ml ⁻¹) | 6 7 . 1 | 1 6 . 4 |

〈実施例 1 2 〉

インシュリンの緩衝溶液にシクロースおよびアミノアルキルメタアクリレートコポリマー E (オイドラギット E100) およびヒドロキシプロピルメチルセルロース (H P M C) の緩衝溶液を加え、噴霧乾燥し、以下の処方の粉末状経鼻投与製剤を得た。

| | |
|--------|-------------|
| インシュリン | 1 8 W / W % |
|--------|-------------|

| | |
|-----------------|-------------|
| オイドラギット E 1 0 0 | 2 7 W／W % |
| H P M C | 9 W／W % |
| シュクロース | 3 2 W／W % |
| 緩衝成分 | 適量 |
| 全量 | 1 0 0 W／W % |

〈実施例 1 3 〉

インシュリンの緩衝溶液にシュクロースおよびポリ－L－アルギニンおよびヒドロキシプロピルメチルセルロース（H P M C）の緩衝溶液を加え、噴霧乾燥し、以下の処方の粉末状経鼻投与製剤を得た。

| | |
|------------|-------------|
| インシュリン | 1 8 W／W % |
| ポリ－L－アルギニン | 2 7 W／W % |
| H P M C | 9 W／W % |
| シュクロース | 3 2 W／W % |
| 緩衝成分 | 適量 |
| 全量 | 1 0 0 W／W % |

〈実施例 1 4 〉

インシュリンの緩衝溶液にシュクロースおよびジエチルアミノエチル（D E A E）-デキストランおよびヒドロキシプロピルメチルセルロース（H P M C）の緩衝溶液を加え、噴霧乾燥し、以下の処方の粉末状経鼻投与製剤を得た。

| | |
|------------------|-------------|
| インシュリン | 1 8 W／W % |
| D E A E - デキストラン | 2 7 W／W % |
| H P M C | 9 W／W % |
| シュクロース | 3 2 W／W % |
| 緩衝成分 | 適量 |
| 全量 | 1 0 0 W／W % |

〈実施例 15〉

インシュリンの緩衝溶液にシュクロースおよびキトサンおよびヒドロキシプロピルメチルセルロース（H P M C）の緩衝溶液を加え、噴霧乾燥し、以下の処方の粉末状経鼻投与製剤を得た。

| | |
|---------|-------------|
| インシュリン | 1 8 W／W % |
| キトサン | 2 7 W／W % |
| H P M C | 9 W／W % |
| シュクロース | 3 2 W／W % |
| 緩衝成分 | 適量 |
| 全量 | 1 0 0 W／W % |

〈比較例 4〉

インシュリンの緩衝溶液にシュクロースおよびヒドロキシプロピルメチルセルロース（H P M C）の緩衝溶液を加え、噴霧乾燥し、以下の処方の粉末状経鼻投与製剤を得た。

| | |
|---------|-------------|
| インシュリン | 1 8 W／W % |
| H P M C | 9 W／W % |
| シュクロース | 6 0 W／W % |
| 緩衝成分 | 適量 |
| 全量 | 1 0 0 W／W % |

〈比較例 5〉

インシュリンを緩衝溶液に溶解させ以下の濃度の皮下投与液を調製した。

| | |
|--------|---------------|
| インシュリン | 1 . 0 m g／m l |
|--------|---------------|

〈実験例 7〉

雄性ビーグル犬を用い実施例12、13、14、15および比較例4で調製した製剤を経鼻投与、比較例5で調製した製剤を皮下投与した。経鼻投与群については、インシュリンとして $70 \mu\text{g}/\text{kg}$ 投与されるようにゼラチンカプセルに充填した。先端に約5.0cmの長さのシリコンチューブを接着したパブライザー(R)(石川製作所製)にゼラチンカプセルを装着し投与の準備を行なった。外鼻孔よりパブライザーのシリコンチューブ部を鼻腔内に挿入し、ゴム球部分を押して投与した。皮下投与群では、比較例5の製剤をインシュリンとして $25 \mu\text{g}/\text{kg}$ ビーグル犬の背部に皮下投与した。投与後、一定時間毎に前腕静脈より採血した。血中インシュリン濃度はELISA法を用いて測定した。表7に血中インシュリン濃度-時間曲線下面積(AUC)の値を示した。その結果、オイドラギットE100はインシュリンの経鼻吸収を顕著に促進することが判明した。更に、その吸収促進効果は、ポリーエルギニン、DEAE-デキストラン、キトサンよりも優れていた。また、皮下投与に対する実施例12の製剤の生物学的利用率は27%であった。

表7

| 投与製剤 | 実施例12 | 比較例4 | 比較例5 |
|--|-------|-------|-------|
| AUC 0→7時間 (ng·hr·ml ⁻¹) | 29.0 | 2.6 | 38.8 |
| | | | |
| 投与製剤 | 実施例13 | 実施例14 | 実施例15 |
| AUC 0→7時間 (ng·hr·ml ⁻¹) | 2.9 | 2.5 | 23.6 |

<実施例16>

顆粒球コロニー刺激因子(G-CSF)の緩衝溶液にD-マンニトルおよびアミノアルキルメタアクリレートコポリマーE(オイドラギッ

ト E 1 0 0) の緩衝溶液を加え、噴霧乾燥し、以下の処方の粉末状経鼻投与製剤を得た。

| | |
|-----------------|-------------------|
| G - C S F | 1 0 . 0 W / W % |
| オイドラギット E 1 0 0 | 7 . 5 W / W % |
| D - マンニトール | 7 5 . 2 W / W % |
| 緩衝成分 | 適量 |
| 全量 | 1 0 0 . 0 W / W % |

＜実施例 1 7 ＞

顆粒球コロニー刺激因子 (G - C S F) の緩衝溶液に D - マンニトールおよびポリ - L - アルギニンの緩衝溶液を加え、噴霧乾燥し、以下の処方の粉末状経鼻投与製剤を得た。

| | |
|----------------|-------------------|
| G - C S F | 1 0 . 0 W / W % |
| ポリ - L - アルギニン | 7 . 5 W / W % |
| D - マンニトール | 7 5 . 2 W / W % |
| 緩衝成分 | 適量 |
| 全量 | 1 0 0 . 0 W / W % |

＜実施例 1 8 ＞

顆粒球コロニー刺激因子 (G - C S F) の緩衝溶液に D - マンニトールおよびジエチルアミノエチル (D E A E) - デキストランの緩衝溶液を加え、噴霧乾燥し、以下の処方の粉末状経鼻投与製剤を得た。

| | |
|------------------|-------------------|
| G - C S F | 1 0 . 0 W / W % |
| D E A E - デキストラン | 7 . 5 W / W % |
| D - マンニトール | 7 5 . 2 W / W % |
| 緩衝成分 | 適量 |
| 全量 | 1 0 0 . 0 W / W % |

<実施例19>

顆粒球コロニー刺激因子 (G-CSF) の緩衝溶液にD-マンニトールおよびキトサンの緩衝溶液を加え、噴霧乾燥し、以下の処方の粉末状経鼻投与製剤を得た。

| | |
|----------|------------|
| G-CSF | 10.0 W/W% |
| キトサン | 7.5 W/W% |
| D-マンニトール | 75.2 W/W% |
| 緩衝成分 | 適量 |
| 全量 | 100.0 W/W% |

<実験例8>

雄性ビーグル犬を用い実施例16、17、18、および19で調製した製剤をG-CSFとして $50 \mu\text{g}/\text{kg}$ 投与されるようにゼラチンカプセルに充填した。先端に約5.0 cmの長さのシリコンチューブを接着したパブライザー(R)(石川製作所製)にゼラチンカプセルを装着し投与の準備を行なった。外鼻孔よりパブライザーのシリコンチューブ部を鼻腔内に挿入し、ゴム球部分を押して投与した。投与後、一定時間毎に前腕静脈より採血した。血中G-CSF濃度はELISA法を用いて測定した。表8に血中G-CSF濃度一時間曲線下面積(AUC_G)の測定した。その結果、オイドラギットE100を含有する粉末の血中値を示した。その結果、オイドラギットE100を含有する粉末の血中G-CSF濃度一時間曲線下面積(AUC_G)が最も高いことが判明した。以上より、オイドラギットE100の吸収促進作用は他のポリカチオンであるポリ-L-アルギニン、DEAE-デキストラン、キトサンよりも優れていることが明らかとなつた。

表 8

| 投与製剤 | 実施例 1 6 | 実施例 1 7 |
|--|---------|---------|
| A U C _G 0→31時間 (ng·hr·ml ⁻¹) | 4 6 . 4 | 3 5 . 7 |
| | | |
| 投与製剤 | 実施例 1 8 | 実施例 1 9 |
| A U C _G 0→31時間 (ng·hr·ml ⁻¹) | 2 2 . 9 | 4 2 . 8 |

<実施例 2 0 >

エリスロポエチンの緩衝溶液にシュクロースおよびアミノアルキルメタアクリレートコポリマーE（オイドラギットE 1 0 0）およびヒドロキシプロピルメチルセルロース（H P M C）の緩衝溶液を加え、噴霧乾燥し、以下の処方の粉末状経鼻投与製剤を得た。

| | |
|----------------|---------------|
| エリスロポエチン | 3 0 W / W % |
| オイドラギットE 1 0 0 | 3 0 W / W % |
| H P M C | 1 0 W / W % |
| シュクロース | 1 5 W / W % |
| 緩衝成分 | 適量 |
| 全量 | 1 0 0 W / W % |

<比較例 6 >

エリスロポエチンの緩衝溶液にシュクロースおよびヒドロキシプロピルメチルセルロース（H P M C）の緩衝溶液を加え、噴霧乾燥し、以下の処方の粉末状経鼻投与製剤を得た。

| | |
|----------|-------------|
| エリスロポエチン | 3 0 W / W % |
|----------|-------------|

| | |
|---------|-------------|
| H P M C | 1 0 W／W % |
| シユクロース | 4 5 W／W % |
| 緩衝成分 | 適量 |
| 全量 | 1 0 0 W／W % |

〈実施例 2 1〉

エリスロポエチンの緩衝溶液にシユクロースおよびポリー L - アルギニンおよびヒドロキシプロピルメチルセルロース (H P M C) の緩衝溶液を加え、噴霧乾燥し、以下の処方の粉末状経鼻投与製剤を得た。

| | |
|---------------|-------------|
| エリスロポエチン | 3 0 W／W % |
| ポリー L - アルギニン | 3 0 W／W % |
| H P M C | 1 0 W／W % |
| シユクロース | 1 5 W／W % |
| 緩衝成分 | 適量 |
| 全量 | 1 0 0 W／W % |

〈実施例 2 2〉

エリスロポエチンの緩衝溶液にシユクロースおよびジエチルアミノエチル (D E A E) - デキストランおよびヒドロキシプロピルメチルセルロース (H P M C) の緩衝溶液を加え、噴霧乾燥し、以下の処方の粉末状経鼻投与製剤を得た。

| | |
|------------------|-------------|
| エリスロポエチン | 3 0 W／W % |
| D E A E - デキストラン | 3 0 W／W % |
| H P M C | 1 0 W／W % |
| シユクロース | 1 5 W／W % |
| 緩衝成分 | 適量 |
| 全量 | 1 0 0 W／W % |

<実施例 23>

エリスロポエチンの緩衝溶液にシュクロースおよびキトサンおよびヒドロキシプロピルメチルセルロース (H P M C) の緩衝溶液を加え、噴霧乾燥し、以下の処方の粉末状経鼻投与製剤を得た。

| | |
|----------|---------------|
| エリスロポエチン | 3 0 W / W % |
| キトサン | 3 0 W / W % |
| H P M C | 1 0 W / W % |
| シュクロース | 1 5 W / W % |
| 緩衝成分 | 適量 |
| 全量 | 1 0 0 W / W % |

<比較例 7>

エリスロポエチンを緩衝溶液に溶解させ以下の濃度の皮下投与液を調製した。

| | |
|----------|---------------------|
| エリスロポエチン | 2 5 0 μ g / m l |
|----------|---------------------|

<実験例 9>

雄性ビーグル犬を用い実施例 20、21、22、23 および比較例 6 で調製した製剤を経鼻投与、比較例 7 で調製した製剤を皮下投与した。経鼻投与群については、エリスロポエチンとして $1 2 0 \mu$ g / k g 投与されるようにゼラチンカプセルに充填した。先端に約 5.0 cm の長さのシリコンチューブを接着したパブライザー (R) (石川製作所製) にゼラチンカプセルを装着し投与の準備を行なった。外鼻孔よりパブライザーのシリコンチューブ部を鼻腔内に挿入し、ゴム球部分を押して投与した。皮下投与群では、比較例 7 の製剤をエリスロポエチンとして 5μ g / k g ビーグル犬の背部に皮下投与した。投与後、一定時間毎に前腕静脈より採血した。血中エリスロポエチン濃度は E L I S A 法を用いて測定した。表 9 に血中エリスロポエチン濃度 - 時間曲線下面積 (A U C) の値を示

した。その結果、オイドラギットE 100はエリスロポエチンの経鼻吸収を顕著に促進することが判明した。更に、その吸収促進効果は、ポリ-L-アルギニン、D E A E-デキストラン、キトサンよりも優れていた。また、皮下投与に対する実施例20の生物学的利用率は15%であった。

表9

| 投与製剤 | 実施例20 | 比較例6 | 実施例21 |
|---|-------|-------|-------|
| A U C 0→11時間 (U·hr·ml ⁻¹) | 29.1 | 1.5 | 19.1 |
| <hr/> | | | |
| 投与製剤 | 実施例22 | 実施例23 | 比較例7 |
| A U C 0→11時間 (U·hr·ml ⁻¹) (エリスロポエチン1μgは130Uに相当) | 6.6 | 20.2 | 7.9 |

〈実施例24〉

成長ホルモンの緩衝溶液にD-マンニトールおよびアミノアルキルメタアクリレートコポリマーE（オイドラギットE 100）の緩衝溶液を加え、噴霧乾燥し、以下の処方の粉末状経鼻投与製剤を得た。

| | |
|--------------|------------|
| 成長ホルモン | 10.0 W/W% |
| オイドラギットE 100 | 7.5 W/W% |
| D-マンニトール | 75.2 W/W% |
| 緩衝成分 | 適量 |
| 全量 | 100.0 W/W% |

〈比較例8〉

成長ホルモンの緩衝溶液にD-マンニトールの緩衝溶液を加え、噴霧乾燥し、以下の処方の粉末状経鼻投与製剤を得た。

| | |
|----------|------------|
| 成長ホルモン | 10.0 W/W% |
| D-マンニトール | 82.7 W/W% |
| 緩衝成分 | 適量 |
| 全量 | 100.0 W/W% |

〈実験例10〉

雄性ビーグル犬を用い実施例24および比較例8で調製した製剤を成長ホルモンとして $50 \mu\text{g}/\text{kg}$ 投与されるようにゼラチンカプセルに充填した。先端に約5.0cmの長さのシリコンチューブを接着したパブライザー(R)(石川製作所製)にゼラチンカプセルを装着し投与の準備を行なった。外鼻孔よりパブライザーのシリコンチューブ部を鼻腔内に挿入し、ゴム球部分を押して投与した。投与後、一定時間毎に前腕静脈より採血した。血中成長ホルモン濃度はELISA法を用いて測定した。表10に血中成長ホルモン濃度一時間曲線下面積(AUC)の値を示した。その結果、オイドラギットE100は成長ホルモンの経鼻吸收を顕著に促進することが判明し、その吸収率は未添加の場合の10倍という非常に高い値であった。

表10

| 投与製剤 | 実施例24 | 比較例8 |
|---|-------|------|
| AUC 0→11時間 (ng·hr·ml ⁻¹) | 13.0 | 1.3 |

〈実施例25〉

インフルエンザA抗原の緩衝溶液にD-マンニトールおよびアミノアルキルメタアクリレートコポリマーE(オイドラギットE100)の緩

衝溶液を加え、噴霧乾燥し、以下の処方の粉末状経鼻投与製剤を得た。但し、下表のインフルエンザA抗原の重量%は、試薬中の緩衝成分も含めた値である。

| | |
|--------------|------------|
| インフルエンザA抗原 | 4.0 W/W% |
| オイドラギットE 100 | 7.5 W/W% |
| D-マンニトール | 81.2 W/W% |
| 緩衝成分 | 適量 |
| 全量 | 100.0 W/W% |

〈比較例9〉

インフルエンザA抗原の緩衝溶液にD-マンニトールの緩衝溶液を加え、噴霧乾燥し、以下の処方の粉末状経鼻投与製剤を得た。但し、下表のインフルエンザA抗原の重量%は、試薬中の緩衝成分も含めた値である。

| | |
|------------|------------|
| インフルエンザA抗原 | 4.0 W/W% |
| D-マンニトール | 88.7 W/W% |
| 緩衝成分 | 適量 |
| 全量 | 100.0 W/W% |

〈実施例26〉

インフルエンザA抗原の緩衝溶液にD-マンニトールおよびポリ-L-アルギニンの緩衝溶液を加え、噴霧乾燥し、以下の処方の粉末状経鼻投与製剤を得た。但し、下表のインフルエンザA抗原の重量%は、試薬中の緩衝成分も含めた値である。

| | |
|------------|-----------|
| インフルエンザA抗原 | 4.0 W/W% |
| ポリ-L-アルギニン | 7.5 W/W% |
| D-マンニトール | 81.2 W/W% |
| 緩衝成分 | 適量 |

| | |
|----|-------------|
| 全量 | 100.0 W/W % |
|----|-------------|

〈実施例 27〉

インフルエンザ A 抗原の緩衝溶液に D-マンニトール および ジエチルアミノエチル (D E A E) - デキストラン の緩衝溶液を加え、噴霧乾燥し、以下の処方の粉末状経鼻投与製剤を得た。但し、下表のインフルエンザ A 抗原の重量 % は、試薬中の緩衝成分も含めた値である。

| | |
|------------------|-------------|
| インフルエンザ A 抗原 | 4.0 W/W % |
| D E A E - デキストラン | 7.5 W/W % |
| D-マンニトール | 81.2 W/W % |
| 緩衝成分 | 適量 |
| 全量 | 100.0 W/W % |

〈実施例 28〉

インフルエンザ A 抗原の緩衝溶液に D-マンニトール および キトサン の緩衝溶液を加え、噴霧乾燥し、以下の処方の粉末状経鼻投与製剤を得た。但し、下表のインフルエンザ A 抗原の重量 % は、試薬中の緩衝成分も含めた値である。

| | |
|--------------|-------------|
| インフルエンザ A 抗原 | 4.0 W/W % |
| キトサン | 7.5 W/W % |
| D-マンニトール | 81.2 W/W % |
| 緩衝成分 | 適量 |
| 全量 | 100.0 W/W % |

〈実験例 11〉

〈〈実験 1 日目 (投与 1 回目) 〉〉

実験に用いる雄性ビーグル犬の前腕静脈より採血を実施した。実施例 25、26、27、28、および比較例 9 で調製した製剤をインフルエ

ンザ A 抗原 $2.4 \mu 1$ 相当量が投与されるようにゼラチンカプセルに充填した。先端に約 5.0 cm の長さのシリコンチューブを接着したパブライザー (R) (石川製作所製) にゼラチンカプセルを装着し投与の準備を行なった。外鼻孔よりパブライザーのシリコンチューブ部を鼻腔内に挿入し、ゴム球部分を押して投与した。

<<実験 15 日目 (投与 2 回目) >>

実施例 25、26、27、28、および比較例 9 で調製した製剤を経鼻投与した。この際の群分け、投与量及び、投与方法は、実験 1 日目と同様である。

<<実験 29 日目>>

インフルエンザ A 抗原を投与した雄性ビーグル犬の前腕静脈より採血を実施した。

<<抗体量の測定>>

1、29 日目に採血した血清中の抗インフルエンザ A 抗体量を E L I S A 法により測定した。測定した抗体の種類は I g G 1 および I g G 2 の 2 種類とし、1 日目に対する抗インフルエンザ A 抗体量の変化を比較した。尚、抗インフルエンザ A 抗体量は、抗原を固相化したウェルと固相化していないウェルの吸光度差として比較を実施した。実験 29 日目における抗インフルエンザ A 抗体の誘導された個体の割合を表 1-1、表 1-2 に示した (各群 4 匹)。その結果、オイドラギット E 100 添加群において、抗インフルエンザ A - I g G 1、I g G 2 双方が最も高頻度で誘導されることが判明した。以上より、オイドラギット E 100 は経鼻ワクチンアジュバントとして有用であり、その作用は他のポリカチオンであるポリ-L-アルギニン、D E A E - デキストラン、キトサンより優れていることが明らかになった。

表 1 1 : 抗インフルエンザ A - I g G 1 抗体誘導率

| 投与製剤 | 実施例 2 5 | 比較例 9 | 実施例 2 6 |
|--------------|---------|---------|---------|
| 29日目 (2回感作後) | 50% | 0% | 25% |
| 投与製剤 | 実施例 2 7 | 実施例 2 8 | |
| 29日目 (2回感作後) | 0% | 50% | |

表 1 2 : 抗インフルエンザ A - I g G 2 抗体誘導率

| 投与製剤 | 実施例 2 5 | 比較例 9 | 実施例 2 6 |
|--------------|---------|---------|---------|
| 29日目 (2回感作後) | 100% | 25% | 100% |
| 投与製剤 | 実施例 2 7 | 実施例 2 8 | |
| 29日目 (2回感作後) | 25% | 25% | |

産業上の利用可能性

高分子医薬品にカチオン性ポリマー（特にアミノアルキルメタアクリレートコポリマーまたはポリビニルアセタールジエチルアミノアセート）を添加して、あるいはさらに増粘性ポリマーを添加して、粉末状製剤とすることにより、効果的に粘膜から高分子医薬品を吸収させることができた。

本明細書で引用した全ての刊行物、特許および特許出願をそのまま参考として本明細書にとり入れるものとする。

請 求 の 範 囲

1. 高分子医薬品およびカチオン性ポリマーを含有してなる粉末状経粘膜投与製剤。
2. さらに増粘性ポリマーを含有してなる請求項1記載の粉末状経粘膜投与製剤。
3. カチオン性ポリマーがアミノアルキルメタアクリレートコポリマーである請求項1記載の粉末状経粘膜投与製剤。
4. カチオン性ポリマーがポリビニルアセタールジエチルアミノアセテートである請求項1記載の粉末状経粘膜投与製剤。
5. カチオン性ポリマーがポリ-L-アルギニンである請求項1記載の粉末状経粘膜投与製剤。
6. 増粘性ポリマーがヒドロキシプロピルメチルセルロースである請求項2記載の粉末状経粘膜投与製剤。
7. 高分子医薬品が、生理活性を有するペプチドおよびタンパク質、抗体、ワクチン、ならびに抗原からなる群より選択される請求項1記載の粉末状経粘膜投与製剤。
8. 生理活性を有するペプチドが顆粒球コロニー刺激因子である請求項7記載の粉末状経粘膜投与製剤。
9. 経鼻投与製剤である請求項1～8のいずれか1項に記載の粉末状経粘膜投与製剤。
10. 高分子医薬品およびカチオン性ポリマーを含有してなる粉末状医薬組成物。
11. 高分子医薬品が、生理活性を有するペプチドおよびタンパク質、抗体、ワクチン、ならびに抗原からなる群より選択される請求項10記載の粉末状医薬組成物。
12. 高分子医薬品が、インシュリン、エリスロポエチン、成長ホルモンおよびインフルエンザ抗原からなる群より選択される請求項11記

載の粉末状医薬組成物。

THIS PAGE BLANK (USPTO)

配 列 表
SEQUENCE LISTING

<110> KIRIN-AMGEN INC.

<120> Pharmaceutical Powder Preparation of Macromolecular Pharmaceutical Product for Mucosal Administration

<130> PH-671-PCT

<150> JP 10-192722

<151> 1998-07-08

<150> JP 11-81549

<151> 1999-03-25

<160> 3

<210> 1

<211> 175

<212> PRT

<400> 1

Met Thr Pro Leu G1Y Pro Ala Ser Ser Leu Pro Gln Ser Phe Leu Leu

-1 +1 5 10 15

Lys Cys Leu Glu Gln Val Arg Lys Ile Gln Gly Asp Gly Ala Ala Leu

20 25 30

Gln Glu Lys Leu Cys Ala Thr Tyr Lys Leu Cys His Pro Glu Glu Leu

THIS PAGE BLANK (USPTO)

| | | |
|---|-----|-----|
| 35 | 40 | 45 |
| Val Leu Leu Gly His Ser Leu Gly Ile Pro Trp Ala Pro Leu Ser Ser | | |
| 50 | 55 | 60 |
| Cys Pro Ser Gln Ala Leu Gln Leu Ala Gly Cys Leu Ser Gln Leu His | | |
| 65 | 70 | 75 |
| Ser Gly Leu Phe Leu Tyr Gln Gly Leu Leu Gln Ala Leu Glu Gly Ile | | |
| 80 | 85 | 90 |
| Ser Pro Glu Leu Gly Pro Thr Leu Asp Thr Leu Gln Leu Asp Val Ala | | |
| 100 | 105 | 110 |
| Asp Phe Ala Thr Thr Ile Trp Gln Gln Met Glu Glu Leu Gly Met Ala | | |
| 115 | 120 | 125 |
| Pro Ala Leu Gln Pro Thr Gln Gly Ala Met Pro Ala Phe Ala Ser Ala | | |
| 130 | 135 | 140 |
| Phe Gln Arg Arg Ala Gly Gly Val Leu Val Ala Ser His Leu Gln Ser | | |
| 145 | 150 | 155 |
| Phe Leu Glu Val Ser Tyr Arg Val Leu Arg His Leu Ala Gln Pro | | |
| 160 | 165 | 170 |

<210> 2

<211> 174

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 2

| | | | |
|---|----|----|----|
| Thr Pro Leu Gly Pro Ala Ser Ser Leu Pro Gln Ser Phe Leu Leu Lys | | | |
| 1 | 5 | 10 | 15 |
| Cys Leu Glu Gln Val Arg Lys Ile Gln Gly Asp Gly Ala Ala Leu Gln | | | |
| 20 | 25 | 30 | |

THIS PAGE BLANK (USPTO)

Glu Lys Leu Cys Ala Thr Tyr Lys Leu Cys His Pro Glu Glu Leu Val
35 40 45
Leu Leu Gly His Ser Leu Gly Ile Pro Trp Ala Pro Leu Ser Ser Cys
50 55 60
Pro Ser Gln Ala Leu Gln Leu Ala Gly Cys Leu Ser Gln Leu His Ser
65 70 75 80
Gly Leu Phe Leu Tyr Gln Gly Leu Leu Gln Ala Leu Glu Gly Ile Ser
85 90 95
Pro Glu Leu Gly Pro Thr Leu Asp Thr Leu Gln Leu Asp Val Ala Asp
100 105 110
Phe Ala Thr Thr Ile Trp Gln Gln Met Glu Glu Leu Gly Met Ala Pro
115 120 125
Ala Leu Gln Pro Thr Gln Gly Ala Met Pro Ala Phe Ala Ser Ala Phe
130 135 140
Gln Arg Arg Ala Gly Gly Val Leu Val Ala Ser His Leu Gln Ser Phe
145 150 155 160
Leu Glu Val Ser Tyr Arg Val Leu Arg His Leu Ala Gln Pro
165 170

<210> 3

<211> 175

<212> PRT

<400> 3

Met Ala Pro Thr Tyr Arg Ala Ser Ser Leu Pro Gln Ser Phe Leu Leu
-1 +1 5 10 15
Lys Ser Leu Glu Gln Val Arg Lys Ile Gln Gly Asp Gly Ala Ala Leu
20 25 30

THIS PAGE BLANK (USPTO)

Gln Glu Lys Leu Cys Ala Thr Tyr Lys Leu Cys His Pro Glu Glu Leu
35 40 45
Val Leu Leu Gly His Ser Leu Gly Ile Pro Trp Ala Pro Leu Ser Ser
50 55 60
Cys Pro Ser Gln Ala Leu Gln Leu Ala Gly Cys Leu Ser Gln Leu His
65 70 75
Ser Gly Leu Phe Leu Tyr Gln Gly Leu Leu Gln Ala Leu Glu Gly Ile
80 85 90 95
Ser Pro Glu Leu Gly Pro Thr Leu Asp Thr Leu Gln Leu Asp Val Ala
100 105 110
Asp Phe Ala Thr Thr Ile Trp Gln Gln Met Glu Glu Leu Gly Met Ala
115 120 125
Pro Ala Leu Gln Pro Thr Gln Gly Ala Met Pro Ala Phe Ala Ser Ala
130 135 140
Phe Gln Arg Arg Ala Gly Gly Val Leu Val Ala Ser His Leu Gln Ser
145 150 155
Phe Leu Glu Val Ser Tyr Arg Val Leu Arg His Leu Ala Gln Pro
160 165 170

THIS PAGE BLANK (USPTO)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP99/03563

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

Int.Cl⁶ A61K38/00, 38/18, 38/27, 38/28, 39/145, 39/395, 9/14, 47/30, 47/42

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

Int.Cl⁶ A61K38/00, 38/18, 38/27, 38/28, 39/145, 39/395, 9/14, 47/30, 47/42

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

REGISTRY (STN), CAPLUS (STN)

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

| Category* | Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages | Relevant to claim No. |
|-----------|--|-----------------------|
| PX | WO, 99/17742, A2 (ELAN CORPORATION, PLC), 15 April, 1999 (15. 04. 99), Refer to page 3, line 26 to page 4, line 22 ; Examples & AU, 9891824, A1 | 10-12 |
| X Y | WO, 90/09780, A1 (DANBIO-SYST UK LIMITED), 7 September, 1990 (07. 09. 90), Refer to the full text & US, 5554388, A & JP, 4-503508, A | 1, 2, 6-12 3-5 |
| X | JP, 10-95738, A (K.K. TTS Gijutsu Kenkyusho), 14 April, 1998 (14. 04. 98), Particularly refer to Tables 4 to 12 (Family: none) | 1, 2, 5-12 |
| X | WO, 89/03207, A (COSMAS-DAMIAN LIMITED), 20 April, 1989 (20. 04. 89), Refer to the full text & US, 5204108, A & JP, 3-503160, A | 1, 2, 6-12 |

Further documents are listed in the continuation of Box C. See patent family annex.

| | | | |
|-----|---|-----|--|
| “A” | Special categories of cited documents: document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance | “T” | later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention |
| “E” | earlier document but published on or after the international filing date | “X” | document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone |
| “L” | document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified) | “Y” | document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art |
| “O” | document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means | “&” | document member of the same patent family |
| “P” | document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed | | |

Date of the actual completion of the international search
16 September, 1999 (16. 09. 99)

Date of mailing of the international search report
28 September, 1999 (28. 09. 99)

Name and mailing address of the ISA/
Japanese Patent Office

Authorized officer

Facsimile No.

Telephone No.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP99/03563

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

| Category* | Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages | Relevant to claim No. |
|-----------|---|-----------------------|
| X | JP, 63-146827, A (Chugai Pharmaceutical Co., Ltd.), 18 June, 1988 (18. 06. 88), Refer to the full text & DE, 3723781, A1 & GB, 2193631, A & FR, 2601591, A1 | 1, 2, 6-12 |
| X | JP, 9-291025, A (Teijin Ltd.), 11 November, 1997 (11. 11. 97), Refer to Claims & WO, 97/31626, A1 | 1, 2, 6-12 |
| X | JP, 10-59841, A (Teijin Ltd.), 3 March, 1998 (03. 03. 98), Refer to Claims (Family: none) | 1, 2, 6-12 |
| X | JP, 5-97694, A (Denki Kagaku Kogyo K.K.), 20 April, 1993 (20. 04. 93), Refer to Claims ; Par. Nos. [0020], [0033] to [0036] ; Example 4 (Family: none) | 1, 2, 6-12 |
| X | JP, 7-118170, A (Dott Limited Company), 9 May, 1995 (09. 05. 95), Refer to Claims ; Tables 4, 5 (Family: none) | 1, 2, 6-12 |
| Y | EP, 266113, A1 (AMERICAN HOME PRODUCTS CORP.), 4 May, 1998 (04. 05. 98), Refer to the full text & US, 4760093, A & JP, 63-112513, A | 3 |
| Y | JP, 4-26617, A (Taisho Pharmaceutical Co., Ltd.), 29 January, 1992 (29. 01. 92), Refer to Claims (Family: none) | 4 |

A. 発明の属する分野の分類 (国際特許分類 (IPC))

Int. Cl[°] A 61 K 38/00, 38/18, 38/27, 38/28, 39/145, 39/395,
9/14, 47/30, 47/42

B. 調査を行った分野

調査を行った最小限資料 (国際特許分類 (IPC))

Int. Cl[°] A 61 K 38/00, 38/18, 38/27, 38/28, 39/145, 39/395,
9/14, 47/30, 47/42

最小限資料以外の資料で調査を行った分野に含まれるもの

国際調査で使用した電子データベース (データベースの名称、調査に使用した用語)

REGISTRY (STN), CAPLUS (STN)

C. 関連すると認められる文献

| 引用文献の カテゴリー* | 引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示 | 関連する 請求の範囲の番号 |
|-----------------|---|-------------------|
| P X | WO, 99/17742, A 2 (ELAN CORPORATION, PLC), 15. 4月. 1999 (15. 04. 99), 第3頁第26行-第4頁第22行及び実施例参照, & AU, 9891824, A 1 | 10-12 |
| X Y | WO, 90/09780, A 1 (DANBIO-SYST UK LIMITED), 7. 9月. 1990 (07. 09. 90), 全文参照, & US, 5554388, A & JP, 4-503508, A | 1, 2, 6-12 3-5 |

 C欄の続きにも文献が列挙されている。 パテントファミリーに関する別紙を参照。

* 引用文献のカテゴリー

「A」特に関連のある文献ではなく、一般的技術水準を示すもの
 「E」国際出願日前の出願または特許であるが、国際出願日以後に公表されたもの
 「L」優先権主張に疑義を提起する文献又は他の文献の発行日若しくは他の特別な理由を確立するために引用する文献（理由を付す）
 「O」口頭による開示、使用、展示等に言及する文献
 「P」国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願

の日の後に公表された文献

「T」国際出願日又は優先日後に公表された文献であって出願と矛盾するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引用するもの
 「X」特に関連のある文献であって、当該文献のみで発明の新規性又は進歩性がないと考えられるもの
 「Y」特に関連のある文献であって、当該文献と他の1以上の文献との、当業者にとって自明である組合せによって進歩性がないと考えられるもの
 「&」同一パテントファミリー文献

| | |
|---|-------------------------------|
| 国際調査を完了した日 16. 09. 99 | 国際調査報告の発送日 28.09.99 |
| 国際調査機関の名称及びあて先 日本国特許庁 (ISA/JP) 郵便番号 100-8915 東京都千代田区霞が関三丁目4番3号 | 特許庁審査官（権限のある職員） 大宅 郁治 印 |

電話番号 03-3581-1101 内線 3452

| C (続き) . 関連すると認められる文献 | | 関連する請求の範囲の番号 |
|-----------------------|---|--------------|
| 引用文献の カテゴリー* | 引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示 | |
| X | J P, 10-95738, A (株式会社ティ・ティ・エス技術研究所), 14. 4月. 1998 (14. 04. 98), 特に表4-12参照, ファミリーなし | 1, 2, 5-12 |
| X | WO, 89/03207, A (COSMAS-DAMIAN LIMITED), 20. 4月. 1989 (20. 04. 89), 全文参照, & US, 5204108, A & JP, 3-503160, A | 1, 2, 6-12 |
| X | J P, 63-146827, A (中外製薬株式会社), 18. 6月. 1988 (18. 06. 88), 全文参照, & DE, 3723781, A1 & GB, 2193631, A & FR, 2601591, A1 | 1, 2, 6-12 |
| X | J P, 9-291025, A (帝人株式会社), 11. 11月. 1997 (11. 11. 97), 請求の範囲参照, & WO, 97/31626, A1 | 1, 2, 6-12 |
| X | J P, 10-59841, A (帝人株式会社), 3. 3月. 1998 (03. 03. 98), 請求の範囲参照, ファミリーなし | 1, 2, 6-12 |
| X | J P, 5-97694, A (電気化学工業株式会社), 20. 4月. 1993 (20. 04. 93), 請求の範囲、段落0020, 0033-0036, 及び実施例4参照, ファミリーなし | 1, 2, 6-12 |
| X | J P, 7-118170, A (有限会社ドット), 9. 5月. 1995 (09. 05. 95), 請求の範囲及び表4, 5参照, ファミリーなし | 1, 2, 6-12 |
| Y | EP, 266113, A1 (AMERICAN HOME PRODUCTS CORP.), 4. 5月. 1998 (04. 05. 98), 全文参照, & US, 4760093, A & JP, 63-112513, A | 3 |
| Y | J P, 4-26617, A (大正製薬株式会社), 29. 1月. 1992 (29. 01. 92), 請求の範囲参照, ファミリーなし | 4 |

PCT

国際予備審査報告

REC'D 18 AUG 2000

JPO

E.G.T.

(法第12条、法施行規則第56条)
[PCT 36条及びPCT規則70]

| | | |
|--|---|-------------------------|
| 出願人又は代理人 の書類記号 PH-671-PCT | 今後の手続きについては、国際予備審査報告の送付通知（様式PCT/IPEA/416）を参照すること。 | |
| 国際出願番号 PCT/JP99/03563 | 国際出願日 (日.月.年) 01.07.99 | 優先日 (日.月.年) 08.07.98 |
| 国際特許分類 (IPC) Int. C17 A61K38/00, 38/18, 38/27, 38/28, 39/145, 39/395, 9/14, 47/30, 47/42 | | |
| 出願人（氏名又は名称） キリンーアムジェン インコーポレーテッド | | |

| |
|---|
| 1. 国際予備審査機関が作成したこの国際予備審査報告を法施行規則第57条（PCT 36条）の規定に従い送付する。 |
| 2. この国際予備審査報告は、この表紙を含めて全部で <u>5</u> ページからなる。 |
| <input type="checkbox"/> この国際予備審査報告には、附属書類、つまり補正されて、この報告の基礎とされた及び／又はこの国際予備審査機関に対しても訂正を含む明細書、請求の範囲及び／又は図面も添付されている。 (PCT規則70.16及びPCT実施細則第607号参照) この附属書類は、全部で <u> </u> ページである。 |
| 3. この国際予備審査報告は、次の内容を含む。 |
| I <input checked="" type="checkbox"/> 国際予備審査報告の基礎 II <input type="checkbox"/> 優先権 III <input type="checkbox"/> 新規性、進歩性又は産業上の利用可能性についての国際予備審査報告の不作成 IV <input type="checkbox"/> 発明の単一性の欠如 V <input checked="" type="checkbox"/> PCT 35条(2)に規定する新規性、進歩性又は産業上の利用可能性についての見解、それを裏付けるための文献及び説明 VI <input checked="" type="checkbox"/> ある種の引用文献 VII <input type="checkbox"/> 国際出願の不備 VIII <input type="checkbox"/> 国際出願に対する意見 |

| | |
|---|--|
| 国際予備審査の請求書を受理した日 08.02.00 | 国際予備審査報告を作成した日 03.08.00 |
| 名称及びあて先 日本国特許庁 (IPEA/JP) 郵便番号 100-8915 東京都千代田区霞が関三丁目4番3号 | 特許庁審査官（権限のある職員） 新留 豊  電話番号 03-3581-1101 内線 3452 |

THIS PAGE BLANK (USPTO)

I. 国際予備審査報告の基礎

1. この国際予備審査報告は下記の出願書類に基づいて作成された。(法第6条(PCT14条)の規定に基づく命令に応答するために提出された差し替え用紙は、この報告書において「出願時」とし、本報告書には添付しない。
PCT規則70.16, 70.17)

V 出願時の国際出願書類

| | | |
|---|--------|----------------------|
| <input type="checkbox"/> 明細書 第 _____ | ページ、 | 出願時に提出されたもの |
| <input type="checkbox"/> 明細書 第 _____ | ページ、 | 国際予備審査の請求書と共に提出されたもの |
| <input type="checkbox"/> 明細書 第 _____ | ページ、 | 付の書簡と共に提出されたもの |
| <input type="checkbox"/> 請求の範囲 第 _____ | 項、 | 出願時に提出されたもの |
| <input type="checkbox"/> 請求の範囲 第 _____ | 項、 | PCT19条の規定に基づき補正されたもの |
| <input type="checkbox"/> 請求の範囲 第 _____ | 項、 | 国際予備審査の請求書と共に提出されたもの |
| <input type="checkbox"/> 請求の範囲 第 _____ | 項、 | 付の書簡と共に提出されたもの |
| <input type="checkbox"/> 図面 第 _____ | ページ/図、 | 出願時に提出されたもの |
| <input type="checkbox"/> 図面 第 _____ | ページ/図、 | 国際予備審査の請求書と共に提出されたもの |
| <input type="checkbox"/> 図面 第 _____ | ページ/図、 | 付の書簡と共に提出されたもの |
| <input type="checkbox"/> 明細書の配列表の部分 第 _____ | ページ、 | 出願時に提出されたもの |
| <input type="checkbox"/> 明細書の配列表の部分 第 _____ | ページ、 | 国際予備審査の請求書と共に提出されたもの |
| <input type="checkbox"/> 明細書の配列表の部分 第 _____ | ページ、 | 付の書簡と共に提出されたもの |

2. 上記の出願書類の言語は、下記に示す場合を除くほか、この国際出願の言語である。

上記の書類は、下記の言語である _____ 語である。

- 国際調査のために提出されたPCT規則23.1(b)にいう翻訳文の言語
- PCT規則48.3(b)にいう国際公開の言語
- 国際予備審査のために提出されたPCT規則55.2または55.3にいう翻訳文の言語

3. この国際出願は、スクレオチド又はアミノ酸配列を含んでおり、次の配列表に基づき国際予備審査報告を行った。

- この国際出願に含まれる書面による配列表
- この国際出願と共に提出されたフレキシブルディスクによる配列表
- 出願後に、この国際予備審査(または調査)機関に提出された書面による配列表
- 出願後に、この国際予備審査(または調査)機関に提出されたフレキシブルディスクによる配列表
- 出願後に提出した書面による配列表が出願時における国際出願の開示の範囲を超える事項を含まない旨の陳述書の提出があった
- 書面による配列表に記載した配列とフレキシブルディスクによる配列表に記録した配列が同一である旨の陳述書の提出があった。

4. 補正により、下記の書類が削除された。

- 明細書 第 _____ ページ
- 請求の範囲 第 _____ 項
- 図面 図面の第 _____ ページ/図

5. この国際予備審査報告は、補充欄に示したように、補正が出願時における開示の範囲を越えてされたものと認められるので、その補正がされなかったものとして作成した。(PCT規則70.2(c) この補正を含む差し替え用紙は上記1.における判断の際に考慮しなければならず、本報告に添付する。)

THIS PAGE BLANK (USPTO)

V. 新規性、進歩性又は産業上の利用可能性についての法第12条 (PCT35条(2)) に定める見解、それを裏付ける文献及び説明

1. 見解

| | | |
|---------|---------------------|---|
| 新規性 (N) | 請求の範囲 2-6, 8 | 有 |
| | 請求の範囲 1, 7, 9-12 | 無 |

| | | |
|-----------|---------------|---|
| 進歩性 (I S) | 請求の範囲 1-12 | 有 |
| | 請求の範囲 | 無 |

| | | |
|-----------------|---------------|---|
| 産業上の利用可能性 (I A) | 請求の範囲 1-12 | 有 |
| | 請求の範囲 | 無 |

2. 文献及び説明 (PCT規則70.7)

文献1 : WO, 90/09780, A1 (DANBIO-SYST UK LIMITED),
7. 9月. 1990 (07. 09. 90)

文献2 : JP, 10-95738, A (株式会社ティ・ティ・エス技術研究所),
14. 4月. 1998 (14. 04. 98)

文献3 : WO, 89/03207, A (COSMAS-DAMIAN LIMITED),
20. 4月. 1989 (20. 04. 89)

文献4 : JP, 63-146827, A (中外製薬株式会社),
18. 6月. 1988 (18. 06. 88)

文献5 : JP, 9-291025, A (帝人株式会社),
11. 11月. 1997 (11. 11. 97)

文献6 : JP, 10-59841, A (帝人株式会社),
3. 3月. 1998 (03. 03. 98)

文献7 : JP, 5-97694, A (電気化学工業株式会社),
20. 4月. 1993 (20. 04. 93)

文献8 : JP, 7-118170, A (有限会社ドット),
9. 5月. 1995 (09. 05. 95)

文献9 : EP, 266113, A1 (AMERICAN HOME PRODUCTS CORP.),
4. 5月. 1998 (04. 05. 98)

文献10 : JP, 4-26617, A (大正製薬株式会社),
29. 1月. 1992 (29. 01. 92)

説明 :

文献3 (請求の範囲、第3頁第8行-第10頁第11行) には、DEAE-デキストリン等のポリマーでコーティングされる、インスリン等の高分子医薬品の経鼻投与されるマイクロスフェアー製剤が記載されている。

(以下、補充欄に続く)

THIS PAGE BLANK (USPTO)

VI. ある種の引用文献

1. ある種の公表された文書 (PCT規則70.10)

| 出願番号 特許番号 | 公知日 (日. 月. 年) | 出願日 (日. 月. 年) | 優先日 (有効な優先権の主張) (日. 月. 年) |
|---|------------------|------------------|------------------------------|
| WO, 99/17742, A2 (ELAN CORPORATION, PLC) | 15. 04. 99 | 30. 09. 98 | 03. 10. 97 |

2. 書面による開示以外の開示 (PCT規則70.9)

| 書面による開示以外の開示の種類 | 書面による開示以外の開示の日付 (日. 月. 年) | 書面による開示以外の開示に言及している 書面の日付 (日. 月. 年) |
|-----------------|------------------------------|--|
| | | |

THIS PAGE BLANK (USPTO)

補充欄（いずれかの欄の大きさが足りない場合に使用すること）

第 V 欄の続き

文献7（特許請求の範囲、段落0036及び実施例4）には、G-CSF等の生理活性ペプチドと、キトサン、ポリリジン等の高分子物質を含有し、経鼻投与される経粘膜投与製剤が記載されている。

文献8（請求の範囲及び表4, 5）には、G-CSF等の生理活性ペプチドと、キトサン、ポリリジン等の高分子物質を含有し、経鼻投与される経粘膜投与製剤が記載されている。

よって、請求の範囲1, 7, 9-12に係る発明は新規性を有さない。

文献1（請求の範囲、第3頁第22行-第4頁第4行、第7頁第6行-第9頁第24行及び実施例1-6）には、インスリン等の高分子医薬品及びカチオン性ポリマーを含有し、粉末あるいはマイクロスフェアとして存在し得、経鼻投与される経粘膜投与製剤が記載されている。

文献2（請求の範囲、段落0006-0015及び表4-12）には、顆粒球刺激因子、インスリン等の高分子医薬品、ポリーエーネルギニン、及び必要に応じセルロース誘導体を含有し、粉末あるいはマイクロスフェアとして存在し得、経鼻投与される経粘膜投与製剤が記載されている。

文献4（第4頁右上欄第2-10行及び第1表）には、G-CSF及びカチオン性ポリマーであるキトサンを含有し、顆粒剤とし得る製剤が記載されている。

文献5及び6（特許請求の範囲）には、G-CSF等の高分子医薬品、及び増粘性ポリマーである、ヒドロキシプロピルメチルセルロース、並びにキトサンを含みうる粉末状経鼻投与組成物が記載されている。

これらの文献の記載から、ポリーエーネルギニン、あるいはキトサン等の好適なカチオン性ポリマー、及び具体的剤型を粒子状として選択することは当業者に自明である。

よって、請求の範囲1, 2, 5, 7, 9-11に係る発明は進歩性を有さない。

また、文献1-3, 5-8において、有効成分として用いる高分子医薬品を適宜選択することも、当業者に自明である。

よって、請求の範囲1, 2, 5-12に係る発明は進歩性を有さない。

文献9には、アミノアルキルメタクリレートコポリマーを粉末状製剤に添加しうることが記載されている。

文献10には、点鼻剤にAEAを含有しうることが記載されている。これらの成分はいずれも粉末状点鼻剤に用いうるカチオン性ポリマーであるので、文献1のカチオン性ポリマーとして、これらの成分を選択することは、当業者に自明である。

よって、請求の範囲3, 4に係る発明は進歩性を有さない。

請求の範囲1-12に係る発明は、産業上の利用可能性を有する。

THIS PAGE BLANK (USPTO)

特許協力条約

PCT

EP



国際調査報告

(法8条、法施行規則第40、41条)
 [PCT 18条、PCT規則43、44]

| | | |
|-------------------------------------|---|-------------------------|
| 出願人又は代理人 の書類記号 PH-671-PCT | 今後の手続きについては、国際調査報告の送付通知様式(PCT/ISA/220) 及び下記5を参照すること。 | |
| 国際出願番号 PCT/JP99/03563 | 国際出願日 (日.月.年) 01.07.99 | 優先日 (日.月.年) 08.07.98 |
| 出願人(氏名又は名称) キリンーアムジェン インコーポレーテッド | | |

国際調査機関が作成したこの国際調査報告を法施行規則第41条(PCT 18条)の規定に従い出願人に送付する。
 この写しは国際事務局にも送付される。

この国際調査報告は、全部で 3 ページである。

この調査報告に引用された先行技術文献の写しも添付されている。

1. 国際調査報告の基礎

a. 言語は、下記に示す場合を除くほか、この国際出願がされたものに基づき国際調査を行った。
 この国際調査機関に提出された国際出願の翻訳文に基づき国際調査を行った。

b. この国際出願は、ヌクレオチド又はアミノ酸配列を含んでおり、次の配列表に基づき国際調査を行った。
 この国際出願に含まれる書面による配列表
 この国際出願と共に提出されたフレキシブルディスクによる配列表
 出願後に、この国際調査機関に提出された書面による配列表
 出願後に、この国際調査機関に提出されたフレキシブルディスクによる配列表
 出願後に提出した書面による配列表が出願時における国際出願の開示の範囲を超える事項を含まない旨の陳述書の提出があった。
 書面による配列表に記載した配列とフレキシブルディスクによる配列表に記録した配列が同一である旨の陳述書の提出があった。

2. 請求の範囲の一部の調査ができない(第I欄参照)。

3. 発明の單一性が欠如している(第II欄参照)。

4. 発明の名称は 出願人が提出したものと承認する。

次に示すように国際調査機関が作成した。

5. 要約は

出願人が提出したものと承認する。

第III欄に示されているように、法施行規則第47条(PCT規則38.2(b))の規定により国際調査機関が作成した。出願人は、この国際調査報告の発送の日から1カ月以内にこの国際調査機関に意見を提出することができる。

6. 要約書とともに公表される図は、

第 _____ 図とする。 出願人が示したとおりである。

なし

出願人は図を示さなかった。

本図は発明の特徴を一層よく表している。

THIS PAGE BLANK (USPTO)

A. 発明の属する分野の分類 (国際特許分類 (IPC))

Int. Cl. A61K38/00, 38/18, 38/27, 38/28, 39/145, 39/395,
9/14, 47/30, 47/42

B. 調査を行った分野

調査を行った最小限資料 (国際特許分類 (IPC))

Int. Cl. A61K38/00, 38/18, 38/27, 38/28, 39/145, 39/395,
9/14, 47/30, 47/42

最小限資料以外の資料で調査を行った分野に含まれるもの

国際調査で使用した電子データベース (データベースの名称、調査に使用した用語)

REGISTRY (STN), CAPLUS (STN)

C. 関連すると認められる文献

| 引用文献の カテゴリー* | 引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示 | 関連する 請求の範囲の番号 |
|-----------------|---|-------------------|
| P X | WO, 99/17742, A2 (ELAN CORPORATION, PLC), 15. 4月. 1999 (15. 04. 99), 第3頁第26行-第4頁第22行及び実施例参照, & AU, 9891824, A1 | 10-12 |
| X Y | WO, 90/09780, A1 (DANBIO-SYST UK LIMITED), 7. 9月. 1990 (07. 09. 90), 全文参照, & US, 5554388, A & JP, 4-503508, A | 1, 2, 6-12 3-5 |

 C欄の続きにも文献が列挙されている。 パテントファミリーに関する別紙を参照。

* 引用文献のカテゴリー

「A」特に関連のある文献ではなく、一般的技術水準を示す
もの

「E」国際出願日前の出願または特許であるが、国際出願日
以後に公表されたもの

「L」優先権主張に疑義を提起する文献又は他の文献の発行
日若しくは他の特別な理由を確立するために引用する
文献（理由を付す）

「O」口頭による開示、使用、展示等に言及する文献

「P」国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願

の日の後に公表された文献

「T」国際出願日又は優先日後に公表された文献であって
て出願と矛盾するものではなく、発明の原理又は理
論の理解のために引用するもの

「X」特に関連のある文献であって、当該文献のみで発明
の新規性又は進歩性がないと考えられるもの

「Y」特に関連のある文献であって、当該文献と他の1以
上の文献との、当業者にとって自明である組合せに
よって進歩性がないと考えられるもの

「&」同一パテントファミリー文献

国際調査を完了した日

16. 09. 99

国際調査報告の発送日

28.09.99

国際調査機関の名称及びあて先

日本国特許庁 (ISA/JP)

郵便番号 100-8915

東京都千代田区霞が関三丁目4番3号

特許庁審査官 (権限のある職員)

大宅 郁治

4 C 9639



電話番号 03-3581-1101 内線 3452

THIS PAGE BLANK (USPTO)

| C(続き) . | 関連すると認められる文献 | |
|-----------------|--|------------------|
| 引用文献の カテゴリー* | 引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示 | 関連する 請求の範囲の番号 |
| X | JP, 10-95738, A (株式会社ティ・ティ・エス技術研究所), 14. 4月. 1998 (14. 04. 98), 特に表4-12参照, ファミリーなし | 1, 2, 5-12 |
| X | WO, 89/03207, A (COSMAS-DAMIAN LIMITED), 20. 4月. 1989 (20. 04. 89), 全文参照, & US, 5204108, A & JP, 3-503160, A | 1, 2, 6-12 |
| X | JP, 63-146827, A (中外製薬株式会社), 18. 6月. 1988 (18. 06. 88), 全文参照, & DE, 3723781, A1 & GB, 2193631, A & FR, 2601591, A1 | 1, 2, 6-12 |
| X | JP, 9-291025, A (帝人株式会社), 11. 11月. 1997 (11. 11. 97), 請求の範囲参照, & WO, 97/31626, A1 | 1, 2, 6-12 |
| X | JP, 10-59841, A (帝人株式会社), 3. 3月. 1998 (03. 03. 98), 請求の範囲参照, ファミリーなし | 1, 2, 6-12 |
| X | JP, 5-97694, A (電気化学工業株式会社), 20. 4月. 1993 (20. 04. 93), 請求の範囲、段落0020, 0033-0036, 及び実施例4参照, ファミリーなし | 1, 2, 6-12 |
| X | JP, 7-118170, A (有限会社ドット), 9. 5月. 1995 (09. 05. 95), 請求の範囲及び表4, 5参照, ファミリーなし | 1, 2, 6-12 |
| Y | EP, 266113, A1 (AMERICAN HOME PRODUCTS CORP.), 4. 5月. 1998 (04. 05. 98), 全文参照, & US, 4760093, A & JP, 63-112513, A | 3 |
| Y | JP, 4-26617, A (大正製薬株式会社), 29. 1月. 1992 (29. 01. 92), 請求の範囲参照, ファミリーなし | 4 |

PAGE BLANK (USPTO)

12T
Translation

PATENT COOPERATION TREATY

PCT

INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINATION REPORT

(PCT Article 36 and Rule 70)

| | | |
|---|---|---|
| Applicant's or agent's file reference PH-671-PCT | FOR FURTHER ACTION See Notification of Transmittal of International Preliminary Examination Report (Form PCT/IPEA/416) | |
| International application No. PCT/JP99/03563 | International filing date (day/month/year) 01 July 1999 (01.07.99) | Priority date (day/month/year) 08 July 1998 (08.07.98) |
| International Patent Classification (IPC) or national classification and IPC A61K 38/00, 38/18, 38/27, 38/28, 39/145, 39/395, 9/14, 47/30, 47/42 | | |
| Applicant KIRIN-AMGEN INC. | | |

| |
|--|
| 1. This international preliminary examination report has been prepared by this International Preliminary Examining Authority and is transmitted to the applicant according to Article 36. |
| 2. This REPORT consists of a total of <u>5</u> sheets, including this cover sheet. <input type="checkbox"/> This report is also accompanied by ANNEXES, i.e., sheets of the description, claims and/or drawings which have been amended and are the basis for this report and/or sheets containing rectifications made before this Authority (see Rule 70.16 and Section 607 of the Administrative Instructions under the PCT). These annexes consist of a total of _____ sheets. |
| 3. This report contains indications relating to the following items: <ul style="list-style-type: none">I <input checked="" type="checkbox"/> Basis of the reportII <input type="checkbox"/> PriorityIII <input type="checkbox"/> Non-establishment of opinion with regard to novelty, inventive step and industrial applicabilityIV <input type="checkbox"/> Lack of unity of inventionV <input checked="" type="checkbox"/> Reasoned statement under Article 35(2) with regard to novelty, inventive step or industrial applicability; citations and explanations supporting such statementVI <input checked="" type="checkbox"/> Certain documents citedVII <input type="checkbox"/> Certain defects in the international applicationVIII <input type="checkbox"/> Certain observations on the international application |

| | |
|---|--|
| Date of submission of the demand 08 February 2000 (08.02.00) | Date of completion of this report 03 August 2000 (03.08.2000) |
| Name and mailing address of the IPEA/JP | Authorized officer |
| Facsimile No. | Telephone No. |

PAGE BLANK (USPTO)

INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINATION REPORT

International application No.

PCT/JP99/03563

I. Basis of the report

1. With regard to the elements of the international application:*

 the international application as originally filed the description:

pages _____, as originally filed

pages _____, filed with the demand

pages _____, filed with the letter of _____

 the claims:

pages _____, as originally filed

pages _____, as amended (together with any statement under Article 19)

pages _____, filed with the demand

pages _____, filed with the letter of _____

 the drawings:

pages _____, as originally filed

pages _____, filed with the demand

pages _____, filed with the letter of _____

 the sequence listing part of the description:

pages _____, as originally filed

pages _____, filed with the demand

pages _____, filed with the letter of _____

2. With regard to the language, all the elements marked above were available or furnished to this Authority in the language in which the international application was filed, unless otherwise indicated under this item.

These elements were available or furnished to this Authority in the following language _____ which is:

 the language of a translation furnished for the purposes of international search (under Rule 23.1(b)). the language of publication of the international application (under Rule 48.3(b)). the language of the translation furnished for the purposes of international preliminary examination (under Rule 55.2 and/or 55.3).

3. With regard to any nucleotide and/or amino acid sequence disclosed in the international application, the international preliminary examination was carried out on the basis of the sequence listing:

 contained in the international application in written form. filed together with the international application in computer readable form. furnished subsequently to this Authority in written form. furnished subsequently to this Authority in computer readable form. The statement that the subsequently furnished written sequence listing does not go beyond the disclosure in the international application as filed has been furnished. The statement that the information recorded in computer readable form is identical to the written sequence listing has been furnished.4. The amendments have resulted in the cancellation of: the description, pages _____ the claims, Nos. _____ the drawings, sheets/fig. _____5. This report has been established as if (some of) the amendments had not been made, since they have been considered to go beyond the disclosure as filed, as indicated in the Supplemental Box (Rule 70.2(c)).**

* Replacement sheets which have been furnished to the receiving Office in response to an invitation under Article 14 are referred to in this report as "originally filed" and are not annexed to this report since they do not contain amendments (Rule 70.16 and 70.17).

** Any replacement sheet containing such amendments must be referred to under item 1 and annexed to this report.

THIS PAGE BLANK (USPTO)

INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINATION REPORT

International application No.
PCT/JP 99/03563

V. Reasoned statement under Article 35(2) with regard to novelty, inventive step or industrial applicability; citations and explanations supporting such statement

1. Statement

| | | | |
|-------------------------------|--------|------------|-----|
| Novelty (N) | Claims | 2-6, 8 | YES |
| | Claims | 1, 7, 9-12 | NO |
| Inventive step (IS) | Claims | | YES |
| | Claims | 1-12 | NO |
| Industrial applicability (IA) | Claims | 1-12 | YES |
| | Claims | | NO |

2. Citations and explanations

Document 1: WO, 90/09780, A1 (Danbio-Syst UK Ltd.),
September 7, 1990 (07.09.90)

Document 2: JP, 10-95738, A (KK T S Gijutsu Kenkyusho),
April 14, 1998 (14.04.98)

Document 3: WO, 89/03207, A (Cosmas-Damian Ltd.), April
20, 1989 (20.04.89)

Document 4: JP, 63-146827, A (Chugai Pharmaceutical Co.,
Ltd.), June 18, 1988 (18.06.88)

Document 5: JP, 9-291025, A (Teijin Ltd.), November 11,
1997 (11.11.97)

Document 6: JP, 10-59841, A (Teijin Ltd.), March 3, 1998
(03.03.98)

Document 7: JP, 5-97694, A (Denki Kagaku Kogyo KK), April
20, 1993 (20.04.93)

Document 8: JP, 7-118170, A (Dott Ltd.), May 9, 1995
(09.05.95)

Document 9: EP, 266113, A1 (American Home Products
Corp.), March 4, 1998 (04.05.98)

Document 10: JP, 4-26617, A (Taisho Pharmaceutical Co.,
Ltd.), January 29, 1992 (29.01.92)

Explanation

Document 3 (claims, page 3, line 8 to page 10, line
11) discloses microsphere preparations for nasal

THIS PAGE BLANK (USPTO)

administration of polymeric pharmaceutical substances such as insulin coated with a polymer such as DEAE-dextrin.

Document 7 (claims, paragraph 0036 and Example 4) discloses nasal transmucosal preparations which contain a physiologically-active peptide such as G-CSF and a polymeric substance such as chitosan or polylysine.

Document 8 (claims and Tables 4 and 5) also discloses nasal transmucosal preparations which contain a physiologically active peptide such as G-CSF and a polymeric substance such as chitosan or polylysine.

Therefore, the invention as described in Claims 1, 7 and 9-12 is not novel.

Document 1 (claims, page 3, line 22 to page 4, line 4, page 7, line 6 to page 9, line 24 and Examples 1-6) discloses nasal transmucosal preparations which contain a polymeric pharmaceutical substance such a insulin together with a cationic polymer, and can be presented as a powder or microsphere.

Document 2 (claims, paragraphs 0006-0015 and Tables 4-12) discloses nasal transmucosal preparations which contain a polymeric pharmaceutical substance such as G-CSF or insulin, together with poly(L-arginine) and optionally a cellulose derivative, and can be presented as a powder or microsphere.

Document 4 (page 4, upper right column, lines 2-10 and Table 1) discloses a preparation containing G-CSF and the polymer chitosan and can be presented as granules.

Documents 5 and 6 (claims) disclose powder compositions for nasal administration which can contain a polymeric pharmaceutical substance such as G-CSF, the thickening polymer hydroxypropyl methylcellulose, and chitosan.

Selection of a suitable cationic polymer such as poly(L-arginine) or chitosan, and a granular form of

THIS PAGE BLANK (USPTO)

presentation, would be obvious to a person skilled in the art from these documents.

Therefore, the invention as described in Claims 1, 2, 5, 7 and 9-11 does not involve an inventive step.

Equally, it would be obvious to a person skilled in the art to select the polymeric pharmaceutical substance used as the active ingredient in Documents 1-3 and 5-8 as appropriate. Therefore, the invention as described in Claims 1, 2 and 5-12 does not involve an inventive step.

Document 9 indicates that an aminoalkyl methacrylate copolymer can be added to a powder preparation.

Document 10 indicates that AEA can be included in nasal drops. These substances are all cationic polymers which can be used in powders and nasal drops; therefore, selection of these substances as the cationic polymer in Document 1 would be obvious to a person skilled in the art.

Therefore, the invention as described in Claims 3 and 4 does not involve an inventive step.

The invention described in Claims 1-12 is industrially applicable.

THIS PAGE BLANK (USPTO)

INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINATION REPORT

International application No.

PCT/JP99/03563

VI. Certain documents cited**1. Certain published documents (Rule 70.10)**

| Application No. Patent No. | Publication date (day/month/year) | Filing date (day/month/year) | Priority date (valid claim) (day/month/year) |
|-------------------------------|--------------------------------------|---------------------------------|---|
| WO,99/17742,A2 | 15 April 1999 (15.04.1999) | 30 September 1998 (30.09.1998) | 03 October 1997 (03.10.1997) |

(ELAN
CORPORATION, PLC)**2. Non-written disclosures (Rule 70.9)**

| Kind of non-written disclosure | Date of non-written disclosure (day/month/year) | Date of written disclosure referring to non-written disclosure (day/month/year) |
|--------------------------------|--|---|
| | | |

THIS PAGE BLANK (USPTO)